

**Synthese natürlich vorkommender
Mono- und Diglucuronide von Flavonoiden**

Heinz Danninger

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548326_0018

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK oHG
8 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2 8 0 9 0 9 0

Synthese natürlich vorkommender
Mono- und Diglucuronide von Flavonoiden

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der
Fakultät für Chemie und Pharmazie
der
Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt
von
Heinz Danninger
aus
München

Juni 1973



Berichterstatter: Professor Dr. H. W a g n e r

Tag der mündlichen Prüfung: 18.7.1973

Herrn Professor Dr.L. FARKAS und Herrn Dr.M. NOGRADI,
Ungarische Akademie der Wissenschaften, Budapest, sowie
Herrn O. SELIGMANN, Institut für Pharmazeutische Arz -
neimittellehre der Universität München, möchte ich für
anregende Diskussionen und Unterstützung während der
Synthesearbeiten meinen herzlichen Dank aussprechen.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A. E I N L E I T U N G	1
B. A L L G E M E I N E R T E I L	2
I. Zur Glucuronidierung von Naturstoffen	2
a) Synthesewege	2
b) Bisher durchgeführte Glucuronidsynthesen	3
II. Synthese von 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-fla- von-3-O-[β -D-glucopyranosiduronsäure] (Quer- cetin-3-O- β -D-glucuronid)	5
III. Synthese von 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-flavon- 3-O-[β -D-glucopyranosiduronsäure] (Kämpferol- 3-O- β -D-glucuronid)	11
IV. Synthese von 5,7,4'-Trihydroxy-flavon-7-O- [β -D-glucopyranosiduronsäure] (Apigenin-7- O- β -D-glucuronid)	19
V. Synthese von 5,7-Dihydroxy-flavon-7-O-[β - D-glucopyranosiduronsäure] (Chrysin-7-O- β - D-glucuronid)	29
VI. Synthese von 5,7,4'-Trihydroxy-flavon-7,4'- di-O-[β -D-glucopyranosiduronsäure] (Apige- nin-7,4'-di-O- β -D-glucuronid)	35
VII. Synthese von 5,7,4'-Trihydroxy-3'-methoxy- flavon-7-O-[β -D-glucopyranosiduronsäure] (Chrysoeriol-7-O- β -D-glucuronid)	40
VIII. Die Ringstruktur von Glucuronsäure, Flavon- glucuroniden und deren Acetate	46
IX. Diskussion über NMR-, IR- und Massenspektren von Flavonglucuroniden	56
C. E X P E R I M E N T E L L E R T E I L	61
I. Allgemeine Verfahren	61
1) Chromatographie	61

2) Allgemeine physikalische Untersuchungsmethoden	62
3) Allgemeine chemische Syntheseverfahren ..	64
II. Synthese von Quercetin-3-O- β -D-glucuronid ..	68
III. Synthese von Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid ..	74
a) Darstellung von 7,4'-Dibenzylkämpferol ..	74
b) Darstellung von Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid	80
IV. Synthese von Apigenin-7-O- β -D-glucuronid ...	86
a) Darstellung von 4'-Benzyl-apigenin	86
α) Syntheseweg nach der ALLAN-ROBINSON-Methode	86
β) Syntheseweg nach TEOULE, CHOPIN und MENTZER	91
b) Darstellung von Apigenin-7-O- β -D-glucuronid	95
V. Synthese von Chrysin-7-O- β -D-glucuronid	102
VI. Synthese von Apigenin-7,4'-di-O- β -D-glucuronid	107
VII. Synthese von Chrysoeriol-7-O- β -D-glucuronid	112
VIII. Syntheseprodukte eines Modellversuches mit β -Naphthol	121

D. ZUSAMMENSTELLUNG DER BISHER ISOLIERTEN FLAVONOID-GLUCURONIDE DES PFLANZENREICHES	122
---	-----

E. LITERATURVERZEICHNIS	130
-------------------------------	-----

A. E I N L E I T U N G

Seit der Erstisolierung eines Flavonglucuronides im Jahre 1901 durch MÖBISCH und GOLDSCHMIEDT¹⁾ aus *Scutellaria al-tissima* (Familie Lamiaceae) sind insgesamt 30 weitere Glucuronide der Flavon- und Flavonolreihe aufgefunden worden. Unter den hauptsächlich aus Compositen (Asteraceen) isolierten Glucuroniden befinden sich 20 Flavonoid-O-mono-glucuronide, 4 Flavonoid-O-di-glucuronide, 6 Flavonoid-glykosyl-glucuronide und 1 Flavonoid-acyl-glucuronid. Abgesehen davon, daß diese Flavonglucuronide wegen ihrer relativ guten Wasserlöslichkeit pharmakologisches Interesse besitzen, war noch keines der natürlich vorkommenden Flavonglucuronide synthetisch dargestellt und in seiner Struktur bewiesen worden.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte es daher sein, allgemein anwendbare Verfahren zur Synthese dieses Glykosidtyps zu entwickeln und einige der am häufigsten vorkommenden Flavon-O-glucuronide durch die Synthese in ihrer Struktur zu bestätigen.

B. ALLGEMEINER TEIL

I. Zur Glucuronidierung von Naturstoffen:

a) Synthesewege:

Zur Darstellung von Polyhydroxyflavon-0-glucuroniden gibt es folgende grundsätzliche Möglichkeiten:

1. Die selektive Glykosidierung einer bestimmten OH-Gruppe mit dem α -Acetobromglucuronsäure-methylester nach Kaschierung der übrigen OH-Gruppen des Flavons durch Benzylgruppen.
2. Die Umsetzung des freien Aglucons mit dem α -Acetobromglucuronsäure-methylester ohne vorhergehende Kaschierung einzelner OH-Gruppen. Diese Methode hat den Nachteil, daß mit Ausnahme der sterisch behinderten OH-Gruppen alle anderen glykosidiert werden, sodaß nur über komplizierte Trennmethode die gewünschten Glykoside rein erhalten werden können. Andererseits eröffnet diese Methode die Möglichkeit, in einem einzigen Arbeitsgang gleichzeitig auch die anderen möglichen Glykosidtypen wie z.B. die in der Natur häufig vorkommenden Diglucuronide zu erhalten.
3. Die Oxidation von natürlich vorkommenden Polyhydroxyflavon-0-glucosiden zu den entsprechenden Glucuroniden. Für die Anwendbarkeit dieser Methode ist allerdings Voraussetzung, daß durch die Oxidation mit einem bestimmten Katalysator nicht auch gleichzeitig das Aglykon angegriffen wird²⁾.

Zur Kupplung der mit α -Acetobromglucuronsäure-methylester dargestellten Glucuronide sind grundsätzlich mehrere Verfahren anwendbar, so z.B. die modifizierte KOENIGS-KNORR-Methode³⁾. In früheren Arbeiten erwies sich zur Glykosidierung der C₃-OH-Gruppe in Flavonolen die Umsetzung nach KOENIGS-KNORR in wasserfreiem Medium Pyridin mit dem Katalysator Silberoxid als geeignet. Für die Glykosidierung der stärker aciden C₇-OH- bzw. C₄'-OH-Gruppe ergab die Chinolin-Methode mit Silbercarbonat als Katalysator die besten Ausbeuten. Zur Darstellung des α -Acetobromzuckers muß die Glucuronsäure vor der Acetylierung und Bromierung als Methylester kaschiert werden. Wir gingen daher bei allen Glykosidierungen von dem nach der Methode von BOLLENBACK und Mitarb.⁴⁾ synthetisierten α -Acetobromglucuronsäure-methylester aus.

b) Bisher durchgeführte Glucuronidsynthesen

Vermutlich das erste synthetische Glucuronid stellten im Jahre 1952 TSOU und SELIGMAN⁵⁾ her, indem sie 2-Naphthyl- β -D-glucopyranosid mit Sauerstoff/Platin zu 2-Naphthyl- β -D-glucopyranuronosid katalytisch oxidierten. BOLLENBACK und Mitarb.⁴⁾ synthetisierten eine Reihe von Aryl-D-glucuroniden, indem sie die entsprechenden Phenole mit α -Acetobromglucuronsäure-methylester nach verschiedenen Methoden kuppelten:

1. Nach der KOENIGS-KNORR-Methode³⁾ kuppelten sie in Benzol mit frisch bereitetem Silbercarbonat.
2. Nach der Methode von GLASER und WULWEK⁶⁾ arbeiteten sie in wässrigem Aceton mit Natriumhydroxid als kondensierendes Agenz.
3. Nach der HELFERICH-Methode⁷⁾ kondensierten sie bei Anwesenheit von Toluolsulfonsäure oder wasserfreiem Zinkchlorid.

HELFERICH und BERGER⁸⁾ verwendeten bei ihren Glucuronidsynthesen als Katalysator Quecksilber-II-cyanid.

ZORBACH und VALIAVEEDAN⁹⁾ erhielten Cortison-glucuronide nach der KOENIGS-KNORR-Methode³⁾ durch Kupplung von Cortison mit α -Acetobromglucuronsäure-methylester in Benzol mit Silbercarbonat als Katalysator.

Die gleiche Methode verwendeten YOSHIMURA und Mitarb.¹⁰⁾ bei der Darstellung der Alkaloidglucuronide Codein-glucuronid, Morphin-6-glucuronid und Morphin-3-glucuronid. Erst kürzlich berichteten CONROW und BERNSTEIN¹¹⁾ über die Synthese von Steroidglucuroniden nach der KOENIGS-KNORR-Methode³⁾, wobei die Autoren abweichend von den anderen Verfahren Cadmiumcarbonat als Katalysator benutzten.

II. Synthese von 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-O-[β -D-glucopyranosiduronsäure] (Quercetin-3-O- β -D-glucuronid)¹²⁾:

Ein Quercetinglucuronid wurde erstmals im Jahre 1939 von ENDRES, HÜTTEL und KAUFMANN¹³⁾ aus *Phaseolus vulgaris* L. (Familie Fabaceae) isoliert und Quercituron genannt. MARSH¹⁴⁾ bestätigte dieses Vorkommen. Die Zuckerstellung am C₃-Hydroxyl des Aglykons klärten SASAKI und WATANABE¹⁵⁾ bei einem von ihnen aus *Gaultheria miqueliana* Takeda (Familie Ericaceae) isolierten und Miquelianin benannten Quercetinglucuronid. PEARL und DARLING¹⁶⁾ konnten dann später zeigen, daß Quercituron und Miquelianin mit einem dritten von ihnen aus *Populus grandidentata* L. (Familie Salicaceae) erhaltenen Quercetin-3-glucuronid identisch war. RIBE-REAU-GAYON¹⁷⁾ fand dieses Glucuronid in *Vitis vinifera* L. (Familie Vitaceae). HARBORNE¹⁸⁾ isolierte Quercetin-3-glucuronid erneut aus *Phaseolus vulgaris* L. (Familie Fabaceae) und ermittelte durch Vergleich der Hydrolysegeschwindigkeiten von isolierter Verbindung mit der verschiedener anderer Flavonolglykoside das C₃-Hydroxyl als Verknüpfungsstelle. Weitere Isolierungen dieses Glucuronids gelangen STADTMANN und POHL^{19,20)} aus *Euphorbia cyparissias* L. (Familie Euphorbiaceae), HARBORNE und MENDEZ²¹⁾ aus *Beilschmiedia miersii* L. (Familie Lauraceae), DUMKOW²²⁾ aus *Euphorbia lathyris* L.

(Familie Euphorbiaceae) und SUBRAMANIAN²³⁾ aus *Nelumbium nuciferum* (Familie Nymphaeaceae). Erst kürzlich fanden dieses Glucuronid RYAN und COFFIN²⁴⁾ in *Rubus idaeus* (Familie Rosaceae), SALEH, BOHM und ORNDUFF²⁵⁾ in *Lasthenia conjungens* und *Lasthenia fremontii* (Familie Asteraceae) und HARBORNE²⁶⁾ in *Foeniculum vulgare* (Familie Apiaceae). Zum Strukturbeweis von Quercetin-3-O- β -D-glucuronid wurde 7,4'-Dibenzyl-quercetin mit α -Acetobromglucuronsäuremethylester umgesetzt. Den Bromzucker stellten wir nach einer Vorschrift von BOLLENBACK und Mitarb.⁴⁾ dar. Abweichend davon brachten wir Tetraacetylglucuronsäuremethylester zunächst in Eisessig unter Erwärmen in Lösung und erst nach dem Erkalten wurde die entsprechende Menge an 40 proz. Bromwasserstofflösung in Eisessig zugefügt.

GOEBEL und BABERS²⁷⁾ erhielten bei der Synthese von α -Acetobromglucuronsäuremethylester nach der Kristallisation aus Äther/Petroläther ein Produkt vom Schmp. 86°C. Das Syntheseprodukt von BOLLENBACK und Mitarb.⁴⁾ aus Äther umkristallisiert schmolz bei 106 - 107°C. Auch MARSH²⁸⁾ beobachtete die Existenz von zwei kristallinen Formen. Aus Äthanol kristallisiert erhielt MARSH ein Produkt vom Schmp. 86°C, aus Äther eine Verbindung vom Schmp. 107°C. War die Kristallform mit dem höheren Schmp. einmal erreicht, so konnte sie nicht mehr in die mit dem niederen Schmp. umgewandelt werden. Wir beobachteten ebenfalls die Existenz zweier Kristallformen.

Die Kristallisation des Syntheseproduktes aus Äthanol im Gefrierschrank unter -20°C ergab bei uns ein Produkt vom Schmp. 81°C . Kristallisation aus Äthanol im Eisschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ lieferte dagegen ein Produkt vom Schmp. $101 - 103^{\circ}\text{C}$. Die Darstellung des partiell kaschierten Quercetins erfolgte durch Acetylierung des Quercetins (I) mit Acetanhydrid/Pyridin²⁹⁾ und Benzylierung von Quercetinpentaacetat (II) nach JURD³⁰⁾. Durch Entacetylierung des 7,4'-Dibenzyl-quercetin-triacetates (III) mit Natriummethylat erhielten wir 7,4'-Dibenzyl-quercetin³¹⁾ (IV). Dieses kuppelten wir mit α -Acetobromglucuronsäure-methylester⁴⁾ (LIV) nach einer von uns modifizierten KOENIGS-KNORR-Methode³⁾ in Pyridin mit Silberoxid als Katalysator. Wir reinigten das Kupplungsprodukt an einer Kieselgelsäule mit dem Laufmittel Toluol/Äthylacetat (5:4) und erhielten nach der Acetylierung mit Acetanhydrid/Natriumacetat 7,4'-Dibenzyl-quercetin-3-O-(β -D-glucuronid-methylester)-pentaacetat (V). Katalytische Entbenzylierung mit der üblichen Methode und anschließende Acetylierung lieferte das Quercetin-3-O-(β -D-glucuronid-methylester)-heptaacetat (VI). Dieses Produkt muß verseift werden, um durch Abspaltung der Acetylgruppen und des Methylesters das freie Glucuronid zu erhalten. Die Verseifung eines Acetates kann sauer z.B. mit 5 proz. Salzsäure oder alkalisch mit Natriummethylat in Methanol erfolgen. In beiden Fällen würde sich aber durch eine Rückbildung des Methylesters ein Gleichgewicht einstellen. Saure Hydrolyse des Methylesters könnte

auch ein Ausfällen des Glucuronids bewirken, bevor noch die Acetylgruppen vollständig verseift wurden. Wir mußten daher in alkalischem Milieu arbeiten, in Abwesenheit von Methanol, um die Methylesterbildung zu verhindern und ohne Einwirkung von Wärme, um die Bildung von Abbauprodukten zu vermeiden.

Wir lösten Quercetin-3-O-(β -D-glucuronid-methylester)-heptaacetat (VI) in einer Aceton-Wasser-Mischung unter Rühren im Eisbad und gaben vorsichtig etwa die 4-fache Menge an stöchiometrisch berechneter 1n-Natronlauge tropfenweise zu. Nach etwa 5 Min. gaben wir noch etwas Wasser zu, um das nach der Verseifung entstehende Natriumsalz, das in Aceton ausfällt, mit Wasser in Lösung zu halten. Nach etwa 2 Stdn. Rühren im Eisbad neutralisierten wir die Lösung mit 1n-Salzsäure, dampften das Aceton im Vakuum bei 30°C ab, säuerten mit 1n-Salzsäure bis pH 3 an und schüttelten zehnmal mit Äthylacetat aus. Die vereinigten Ausschüttelungen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel bei 30°C abgedampft. Das entstandene Quercetin-3-O- β -D-glucuronid (VII) wurde aus 70 proz. Methanol umkristallisiert. Wir erhielten blaßgelbe Nadeln vom Schmp. 190 - 191°C und der optischen Drehung $[\alpha]_D^{30}$: -48,2° ($c = 0.835$ in 50 proz. wässr. Pyridin). Die Verbindung war im Schmelzpunkt, in der optischen Drehung und chromatographisch in zwei Laufmittelsystemen mit dem aus *Euphorbia cyparissias* L. (Familie Euphorbiaceae) isolierten Naturstoff, der uns von Professor Dr. R. POHL, Freiburg, zur Verfügung gestellt wurde, identisch.

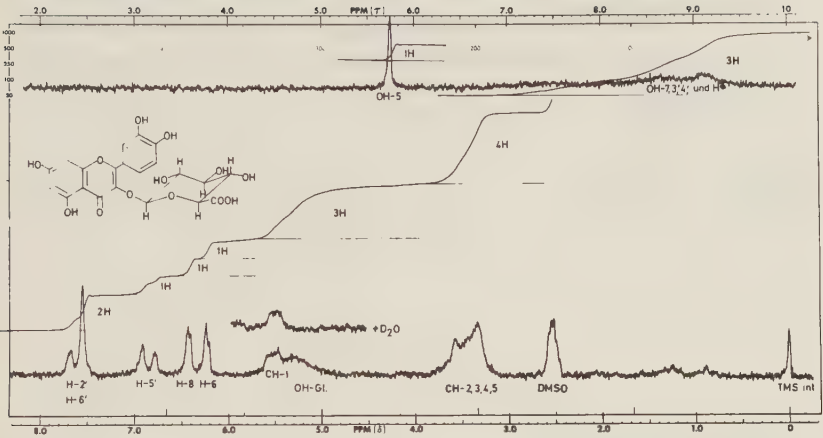


Abb. 1

NMR-Spektrum von Quercetin-3-O-beta-D-glucuronid

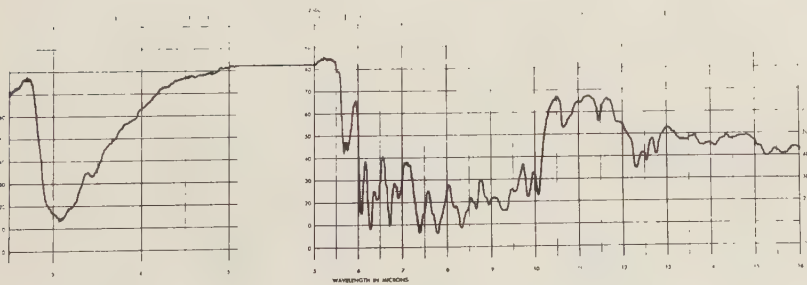
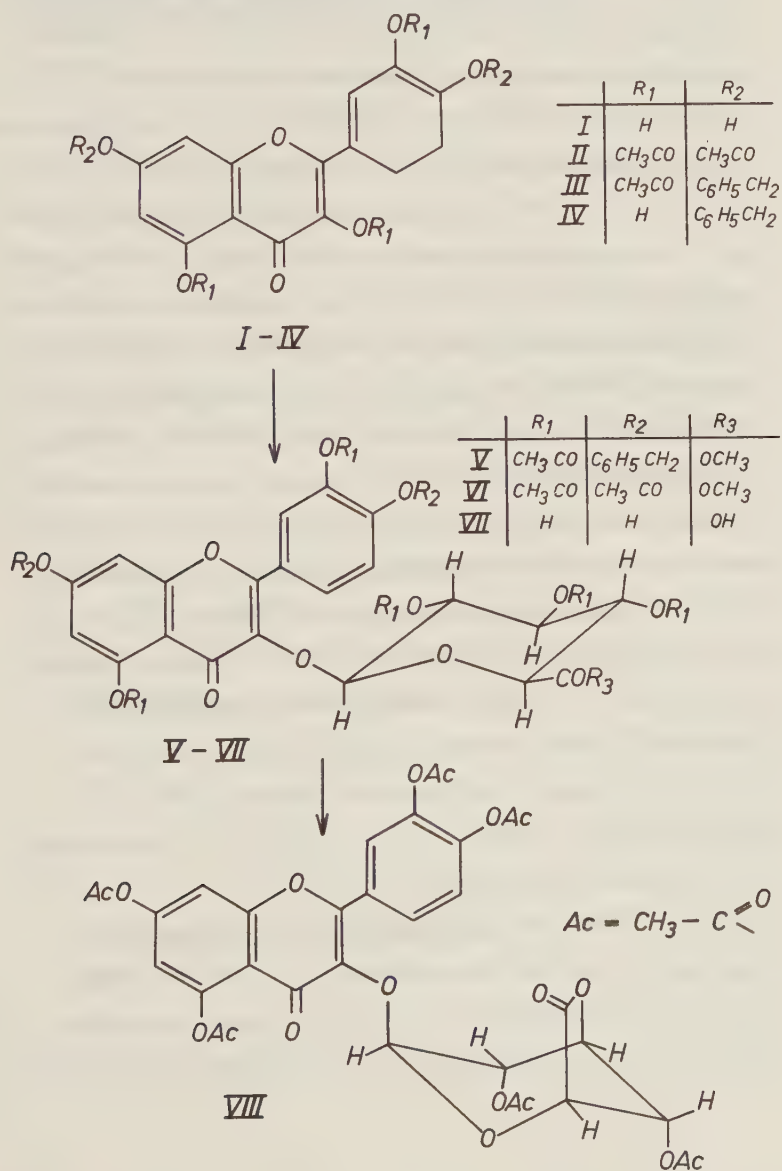


Abb. 2

IR-Spektrum von Quercetin-3-O-beta-D-glucuronid

Acetylierung von Quercetin-3-O- β -D-glucuronid mit Acetanhydrid/Natriumacetat nach der üblichen Methode führte zum Quercetin-3-O-(β -D-glucuronid- γ -lacton)-hexaacetat (VIII).

Synthese von Quercetin - 3-O- β -D-glucuronid



III. Synthese von 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-flavon-3-O-[β -D-glucopyranosiduronsäure] (Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid)³²⁾:

Kämpferol-3-glucuronid ist erstmals von HARBORNE¹⁸⁾ als Inhaltsstoff von *Phaseolus vulgaris* L. (Familie Fabaceae) und von EGGER und KEIL³³⁾ als Flavonbestandteil von *Ane-mone alpina* L. (Familie Ranunculaceae) beschrieben worden. In kristalliner Form dürfte es erstmals von STADTMANN und POHL^{19,20)} aus *Euphorbia cyparissias* L. (Familie Euphorbiaceae) und von DUMKOW²²⁾ aus *Euphorbia lathyris* L. (Familie Euphorbiaceae) isoliert worden sein. SUBRAMANIAN²³⁾ gelang es dieses Glucuronid als Inhaltsstoff von *Nelumbium nuciferum* (Familie Nymphaeaceae) zu finden. Erst kürzlich berichteten wir zusammen mit einer amerikanischen Forschergruppe über eine Isolierung von Kämpferol-3-glucuronid aus *Euphorbia esula* L.³²⁾ (Familie Euphorbiaceae). RYAN und COFFIN²⁴⁾ fanden es als Inhaltsstoff von *Rubus idaeus* (Familie Rosaceae) und HARBORNE²⁶⁾ in *Foeniculum vulgare* (Familie Apiaceae). Zum Strukturbeweis von Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid kuppelten wir 7,4'-Dibenzyl-kämpferol mit α -Acetobromglucuronsäure-methylester.

Zur Darstellung des 3,5-Dihydroxy-7,4'-dibenzyl-oxy-flavons setzten wir Glykolsäurenitril (IX) nach DREYER et al.³⁴⁾ mit Benzoylchlorid (X) zu Benzoyloxy-acetonitril (XI) um. Dieses wurde mit Phloroglucin (XII) nach

einer Vorschrift von HEAP und ROBINSON³⁵⁾ in das ω -Benzoyloxy-phloracetophenon (XIII) übergeführt.

4-Benzoyloxy-benzoesäure-anhydrid (XVI) wurde ausgehend von 4'-Hydroxy-benzoesäure (XIV) nach einem Syntheseweg von PACHECO und GROUILLER³⁶⁾ durch Benzylierung zu 4-Benzoyloxy-benzoesäure (XV) und durch Behandlung mit Thionylchlorid über das Säurechlorid hergestellt.

Das ω -Benzoyloxy-phloracetophenon (XIII) wurde mit 4-Benzoyloxy-benzoesäureanhydrid (XVI) nach einem von KUHN und LÖW³⁷⁾ modifizierten ALLAN-ROBINSON-Verfahren³⁸⁾ zum 4'-Benzyl-kämpferol (XVII) kondensiert. Durch Chromatographie an einer Kieselgelsäule mit Toluol/Äthylacetat (5:4) wurde das Flavon gereinigt und anschließend mit Acetanhydrid/Pyridin nach der üblichen Methode zum 4'-Benzyl-kämpferol-triacetat (XVIII) acetyliert. Durch Benzylierung nach JURD³⁰⁾ erhielten wir 7,4'-Dibenzyl-kämpferol-diacetat (XIX) und durch Verseifen mit Natronlauge das 7,4'-Dibenzyl-kämpferol (XX).

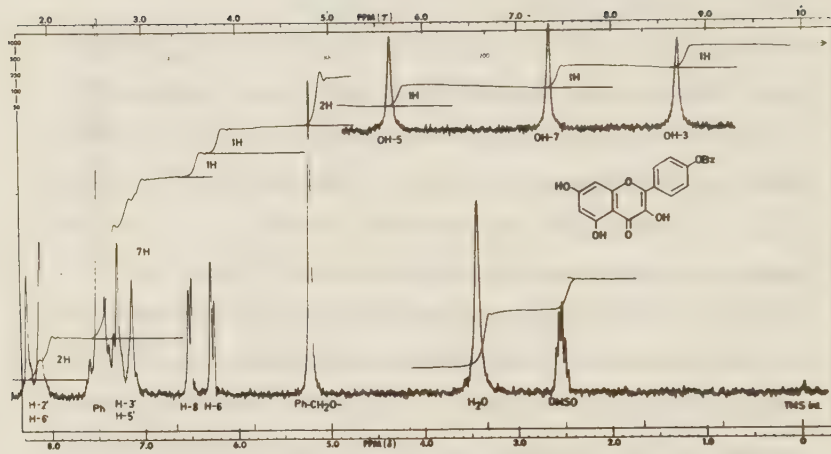


Abb. 3

NMR-Spektrum von 4'-Benzyl-kämpferol

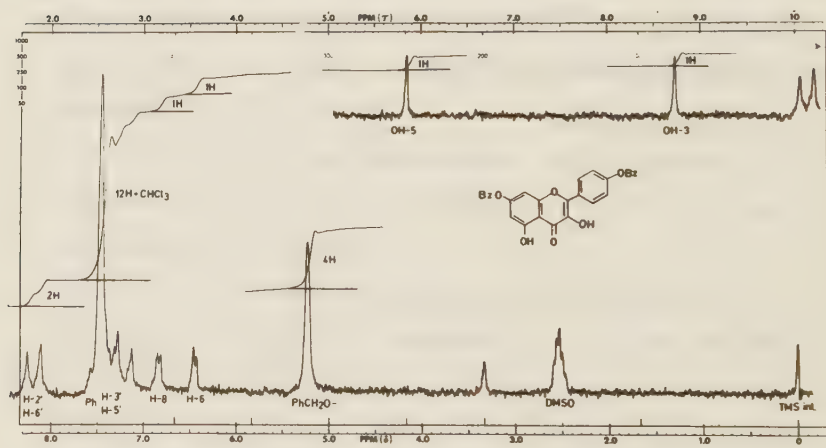


Abb. 4

NMR-Spektrum von 4',7-Dibenzyl-kämpferol

Dieses 7,4'-Dibenzyl-kämpferol (XX) kuppelten wir mit α -Acetobromglucuronsäure-methylester⁴⁾ nach der modifizierten KOENIGS-KNORR-Methode³⁾ in Pyridin mit Silberoxid als Katalysator. Nach einer Reinigung an einer Kieselgelsäule mit dem Laufmittel Toluol/Äthylacetat (5:4) acetylierten wir mit Acetanhydrid/Natriumacetat zum 7,4'-Dibenzyl-kämpferol-3-O-(β -D-glucuronid-methylester)-tetraacetat (XXI). Nach katalytischer Entbenzylierung und anschließender Acetylierung gelangten wir zum Kämpferol-3-O-(β -D-glucuronid-methylester)-hexaacetat (XXII). Aus diesem wurde durch vorsichtiges Verseifen in analoger Weise wie bei der Darstellung von Quercetin-3-O- β -D-glucuronid (VII) mit n-Natronlauge in der Kälte Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid (XXIII) erhalten. Nach der Aufarbeitung kristallisierte aus Äthanol/Benzol ein mikrokristalliner hellgelber Niederschlag vom Schmp. 180 - 182°C.

Im Schmelzpunkt, in den spektralen Daten und im chromatographischen Verhalten zeigte das synthetische Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid Identität mit unserer aus *Euphorbia esula* L. isolierten Verbindung³²⁾ und mit dem aus *Euphorbia cyparissias* L.^{19,20)} isolierten Flavon-glucuronid, das uns Prof.Dr.R. POHL, Freiburg, zur Verfügung stellte.

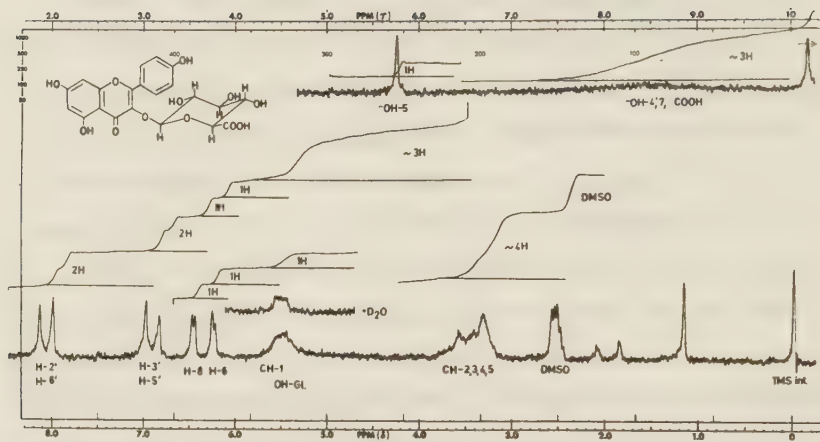


Abb. 5

NMR-Spektrum von Kämpferol-3-O-β-D-glucuronid

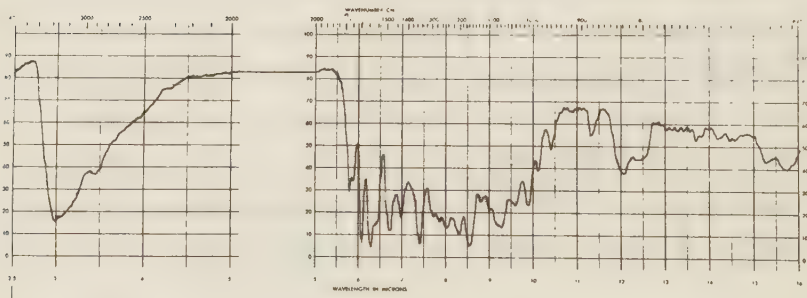
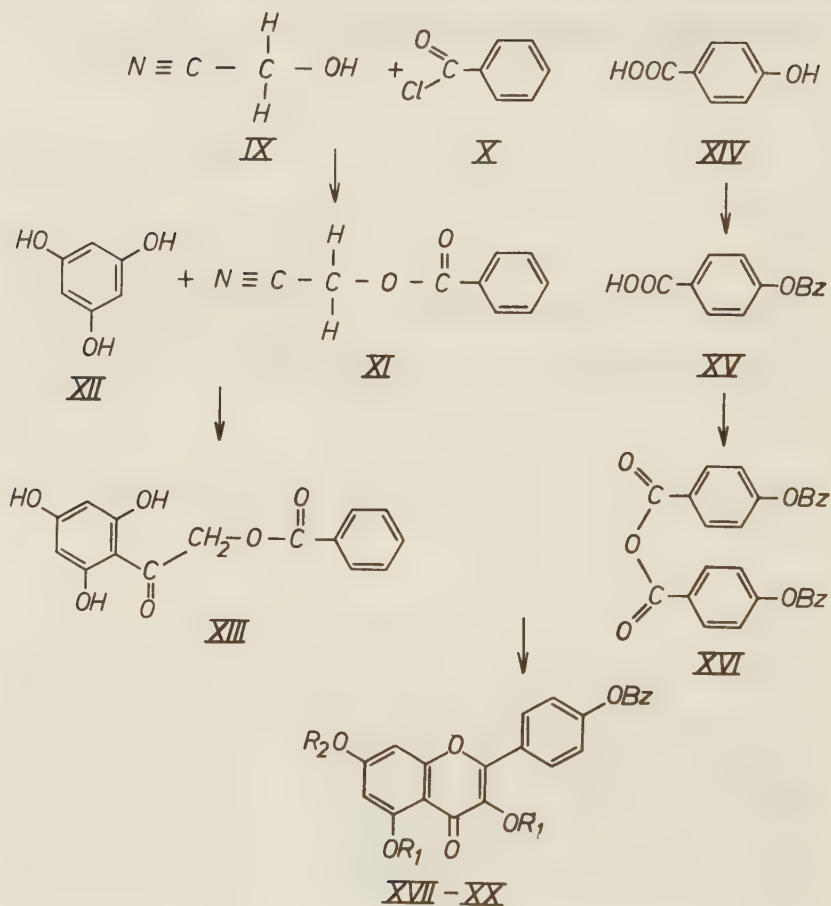


Abb. 6

IR-Spektrum von Kämpferol-3-O-β-D-glucuronid

Acetylierung von Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid mit Acetanhydrid/Natriumacetat führte zum Kämpferol-3-O-(β -D-glucuronid- γ -lacton)-pentaacetat (XXIV).

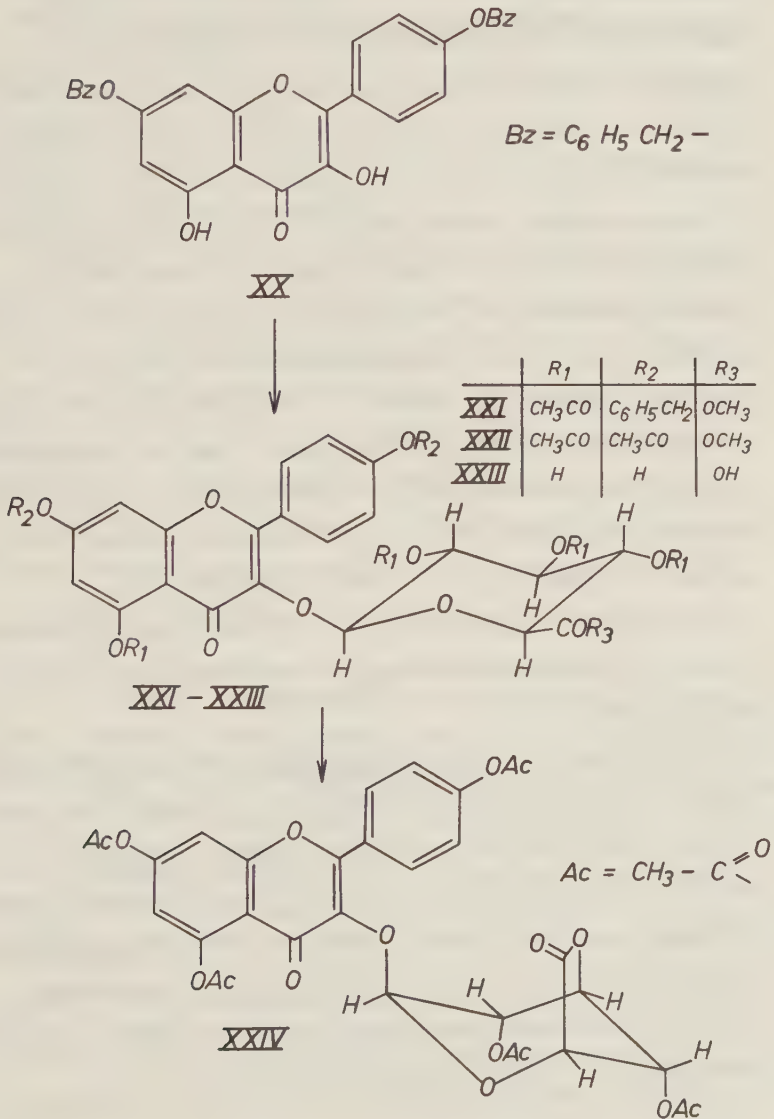
Synthese von 7,4'-Dibenzyl-kämpferol



	R_1	R_2
<u>XVII</u>	H	H
<u>XVIII</u>	$\text{CH}_3 \text{ CO}$	$\text{CH}_3 \text{ CO}$
<u>XIX</u>	$\text{CH}_3 \text{ CO}$	$\text{C}_6\text{H}_5 \text{ CH}_2$
<u>XX</u>	H	$\text{C}_6\text{H}_5 \text{ CH}_2$

$\text{Bz} = \text{C}_6\text{H}_5 \text{ CH}_2-$

Synthese von Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid



IV. Synthese von 5,7,4'-Trihydroxy-flavon-7-O- β -D-glucopyranosiduronsäure] (Apigenin-7-O- β -D-glucuronid)³⁹⁾:

Apigenin-7-glucuronid wurde erstmals von IMAI und MAYAMA⁴⁰⁾ in *Erigeron annuus* L. Pers. (Familie Asteraceae) gefunden. SEIKEL⁴¹⁾ isolierte es aus *Antirrhinum majus* L. (Familie Scrophulariaceae), konnte es aber nur in Form des Acetates rein darstellen. Beide Autoren gaben nur Daten über die Hydrolyseprodukte bzw. über Methylierung und anschließende Hydrolyse an. In einer chemosystematischen Übersicht berichteten HARBORNE und Mitarb.⁴²⁾ über das Vorkommen dieses Glucuronids in *Leucanthemum*-Arten (Familie Asteraceae). Erst kürzlich beschrieben wir zusammen mit einer indischen Forschergruppe die Isolierung von Apigenin-7-glucuronid aus *Ruellia tuberosa* L.³⁹⁾ (Familie Acanthaceae). Zum Strukturbeweis von Apigenin-7-O- β -D-glucuronid kuppelten wir 4'-Benzyl-apigenin mit α -Acetobromglucuronsäuremethylester.

Zur Darstellung des 4'-Benzylapigenins (XXVIII) wurde Phloroglucin (XII) nach einer Vorschrift von VOGEL⁴³⁾ mit Acetonitril (XXV) zum Phloracetophenon (XXVI) umgesetzt und dieses nach einem von KUHN und LÖW³⁷⁾ modifizierten ALLAN-ROBINSON-Verfahren³⁸⁾ mit 4-Benzoyloxy-benzoesäure-anhydrid³⁶⁾ (XVI) kondensiert. Dabei erhielten wir als Hauptprodukt 4'-Benzyl-3-(4-benzoyloxy-benzoyl)-apigenin (XXVII) und als Nebenprodukt 4'-Benzyl-apigenin (XXVIII).

Durch Veränderung der Molverhältnisse der Ausgangsprodukte (pro Mol Phloracetophenon 1 Mol 4-Benzyl-oxy-benzoesäure - anhydrid) konnten wir zwar den Anteil des Nebenproduktes bis zu 30% steigern, doch war die Ausbeute an 4'-Benzyl-apigenin für die Glykosidierung zu gering.

Wir wählten daher als 2. Syntheseweg das Verfahren von TEOULE, CHOPIN und MENTZER.⁴⁴⁾

4-Hydroxy-acetophenon (XXIX) wurde in Dimethylformamid mit Benzylchlorid zu 4-Benzyl-oxy-acetophenon (XXX) benzyliert. Dieses setzten wir mit Diäthylcarbonat (XXXI) um zu 4-Benzyl-oxy-benzoyl-äthylacetat (XXXII). Letzteres kondensierten wir mit Phloroglucin (XII) im Vakuum bei 170°C zu 4'-Benzyl-apigenin (XXVIII). Die Reinigung erfolgte über das 4'-Benzyl-apigenin-diacetat (XXXIII). Verseifung mit Natriummethylat ergab 4'-Benzyl-apigenin in 95 proz. Ausbeute.

Zur Darstellung des Apigenin-7-O- β -D-glucuronids kuppelten wir 4'-Benzylapigenin (XXVIII) mit α -Acetobromglucuronsäuremethylester⁴⁾ nach der modifizierten KOENIGS-KNORR-Methode³⁾ in Chinolin mit Silbercarbonat als Katalysator. Wir reinigten das Kupplungsprodukt an einer Kieselgelsäule mit Benzol/Äthanol (9:1) und acetylierten anschließend mit Acetanhydrid/Natriumacetat zum 4'-Benzyl-apigenin-7-O-(β -D-glucuronid-methylester)-tetraacetat (XXXIV). Nach katalytischer Entbenzylierung und anschließender Acetylierung gelangten wir zum Apigenin-7-O-(β -D-glucuronid-methylester)-pentaacetat (XXXV). Aus diesem wurde in analoger Weise wie bei der

Darstellung von Quercetin-3-O- β -D-glucuronid (VII) nach vorsichtiger Verseifung mit n-Natronlauge in der Kälte Apigenin-7-O- β -D-glucuronid (XXXVI) erhalten.

Das synthetische Glucuronid erwies sich im chromatographischen Vergleich, im Zersp. 175 - 177°C und in der optischen Drehung $[\alpha]_D^{26}$: -114,7° (c = 0.976 in Pyridin/Wasser 1:1) mit der von uns aus *Ruellia tuberosa* L. (Familie Acanthaceae)³⁹⁾ isolierten Verbindung identisch.

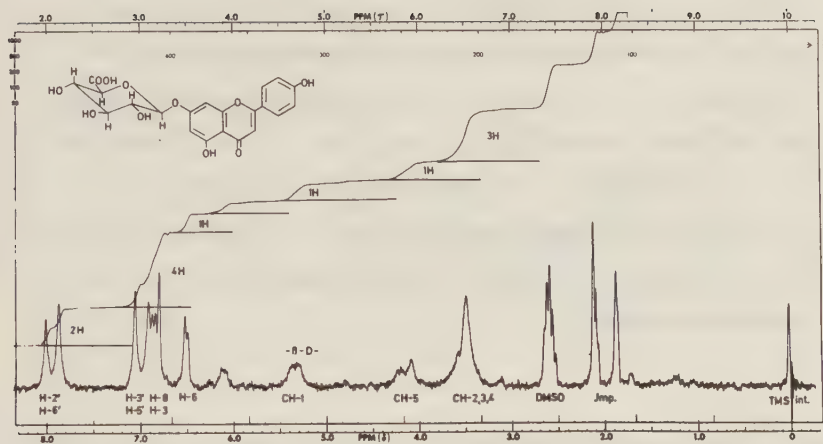


Abb. 7

NMR-Spektrum von Apigenin-7-O-β-D-glucuronid

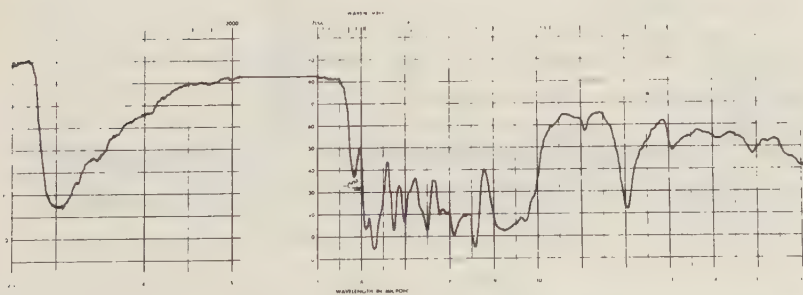


Abb. 8

IR-Spektrum von Apigenin-7-O-β-D-glucuronid

Acetylierung von synthetischem und isoliertem Apigenin-7-O- β -D-glucuronid (XXXVI) mit Acetanhydrid/Natriumacetat führte zum gleichen Produkt, dem Apigenin-7-O- β -D-glucuronid-acetat (XXXVIII) vom Schmp. 212 - 214°C und der optischen Drehung $[\alpha]_D^{28}$: -84.6° (c = 0.455 in Chloroform). DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4):Rf = 0.25. Nach dem NMR-Spektrum handelte es sich um ein Tetra-acetat, da zwei Zuckeracetate und zwei Aglykonacetate getrennt nachweisbar waren.

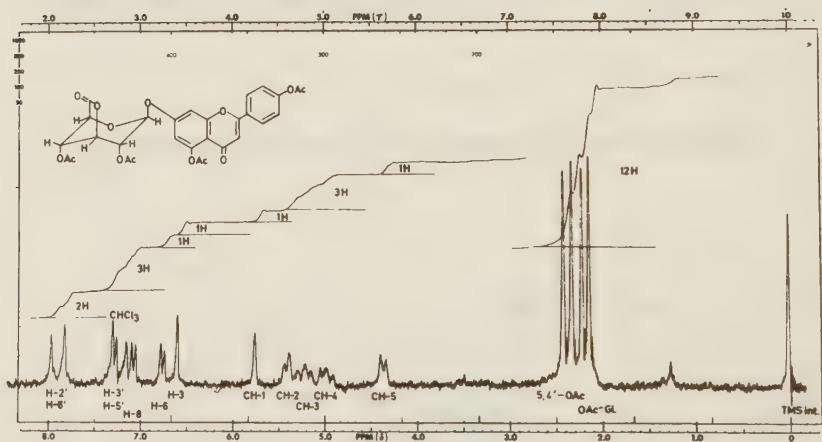


Abb. 9

NMR-Spektrum von Apigenin-7-O- β -D-glucuronid-tetraacetat

Da im IR-Spektrum eine Lactoncarbonylbande bei 1800 cm^{-1} sichtbar wurde, mußte die Carboxylgruppe des Glucuron - säureanteils in der γ -Lactonform vorliegen.

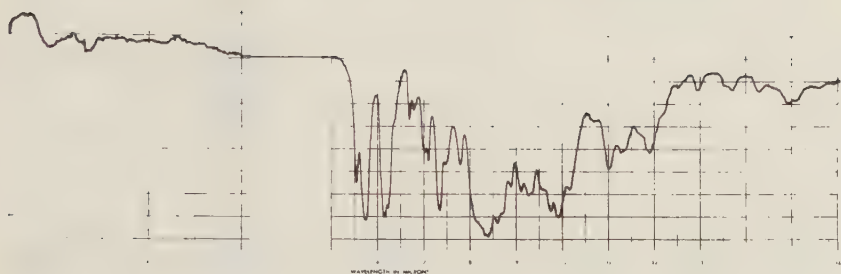


Abb. 10

IR-Spektrum von Apigenin-7-O-(β -D-glucuronid- γ -lacton)-tetraacetat

Das dargestellte Acetat war demnach Apigenin-7-O-(β -D-glucuronid- γ -lacton)-tetraacetat (XXXVIII).

Bei der Acetylierung des Apigenin-7-O- β -D-glucuronid (XXXVI) in Acetanhydrid mit frisch geglühtem Zinkchlorid erhielten wir nach 24 stdg. Stehen bei der Aufarbeitung ein Apigenin-7-O- β -D-glucuronid-acetat (XXXVII) vom Schmp. 170 - 172°C und der Drehung $[\alpha]_D^{27}$: -39,2° (c = 0.741 in Chloroform). Nach dem NMR-Spektrum mußte ein Penta-acetat vorliegen.

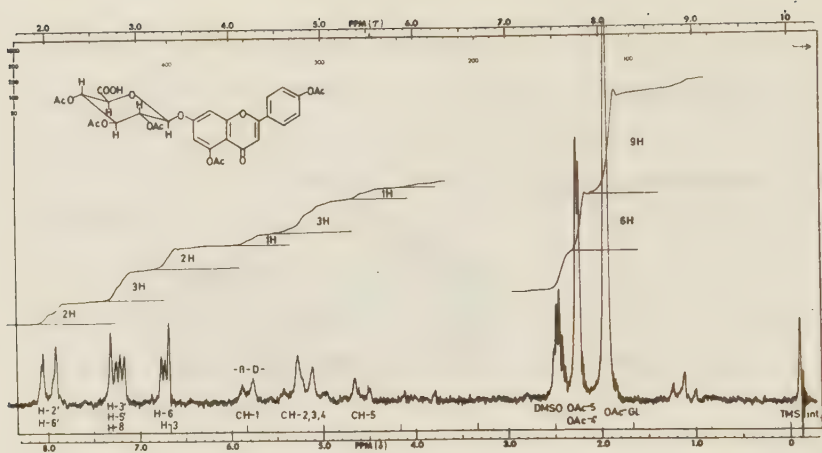


Abb. 11

NMR-Spektrum von Apigenin-7-O- β -D-glucuronid-pentaacetat

Eine Säurecarbonylbande bei 1710 cm^{-1} und eine Säurehydroxylbande bei $2600\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ im IR-Spektrum waren der Beweis für das Vorliegen einer freien Carboxylgruppe.

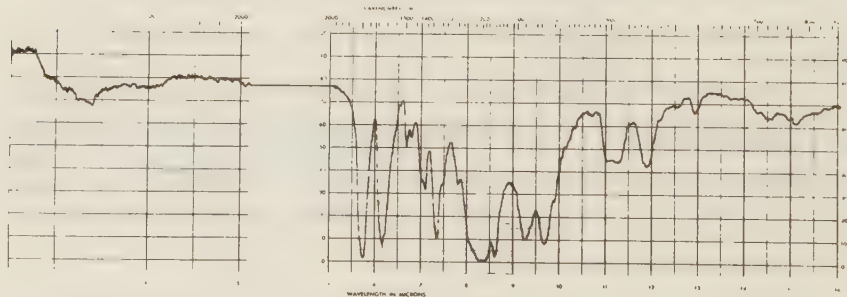
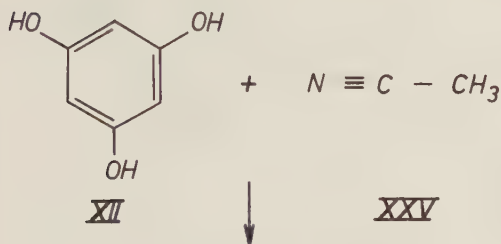


Abb. 12

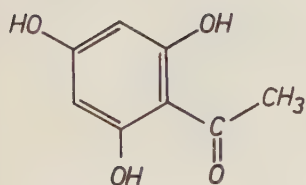
IR-Spektrum von Apigenin-7-O- β -D-glucuronid-pentaacetat

Darstellung von 4'-Benzyl-apigenin

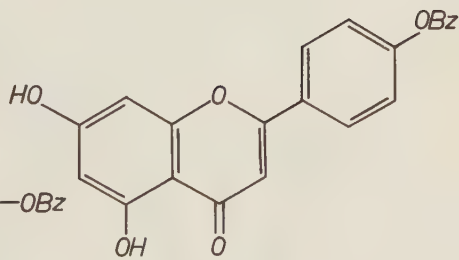
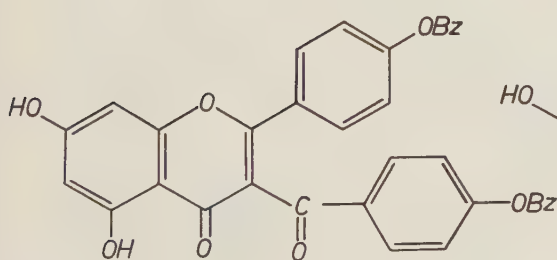
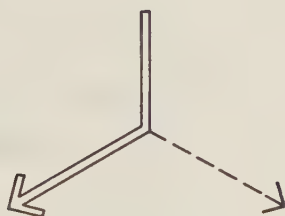
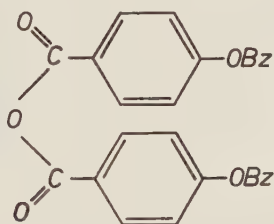
1. Syntheseweg nach der ALLAN - ROBINSON - Methode



Bz = C₆ H₅ CH₂ -

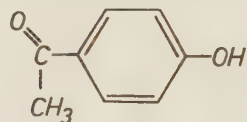


+

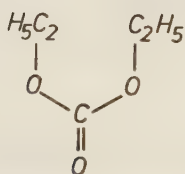


2. Syntheseweg nach TEOULE, CHOPIN und MENTZER

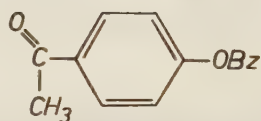
Bz = $C_6H_5CH_2-$



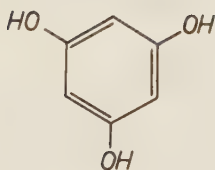
XXIX



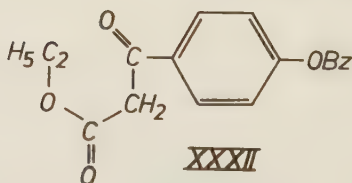
XXXI



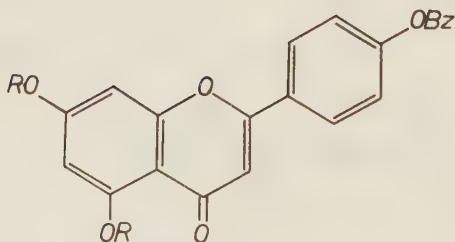
XXX



XII

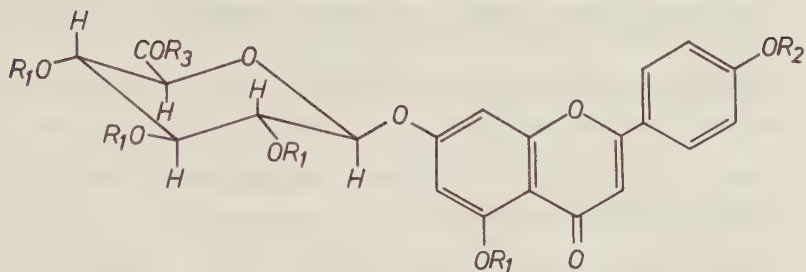


XXXII



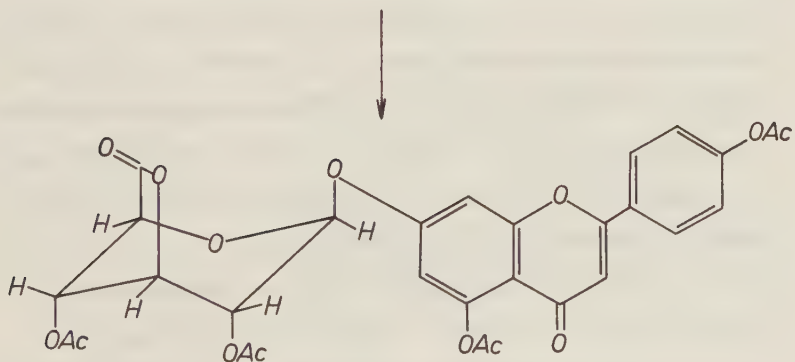
	R
<u>XXVIII</u>	H
<u>XXXIII</u>	CH ₃ CO

Synthese von Apigenin - 7-O- β -D-glucuronid



XXXIV - XXXVII

	R_1	R_2	R_3
<u>XXXIV</u>	CH_3CO	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$	OCH_3
<u>XXXV</u>	CH_3CO	CH_3CO	OCH_3
<u>XXXVI</u>	H	H	OH
<u>XXXVII</u>	CH_3CO	CH_3CO	OH



XXXVIII

V. Synthese von 5,7-Dihydroxy-flavon-7-O-[β -D-glucopyranosiduronsäure] (Chrysin-7-O- β -D-glucuronid)⁴⁵⁾:

Chrysin-7-glucuronid wurde von MARSH⁴⁶⁾ im Jahre 1955 aus den Blättern von *Scutellaria galericulata* L. (Familie Lamiaceae) isoliert. Zur Strukturaufklärung hydrolysierte MARSH eine Probe enzymatisch mit β -Glucuronidase. Die abgespaltene Glucuronsäure wurde zur Zuckersäure oxidiert und mit Phenylendiamin zum Dibenziminazolderivat umgesetzt. Chrysin wurde durch einen direkten Vergleich mit authentischer Substanz identifiziert.

Zum Sturkturbeweis von Chrysin-7-glucuronid kuppelten wir Chrysin (XXXIX) mit α -Acetobromglucuronsäure-methylester⁴⁾ nach dem modifizierten KOENIGS-KNORR-Verfahren³⁾ in Chinolin mit Silbercarbonat als Katalysator. Das über eine Kieselgelsäule mit dem Laufmittel Benzol/Äthanol (9:1) gereinigte Kupplungsprodukt wurde mit Acetanhydrid/Natriumacetat zum Chrysin-7-O-(β -D-glucuronid-methylester)-tetraacetat (XL) acetyliert. Dieses verseiften wir vorsichtig in analoger Weise wie bei der Darstellung vom Quercetin-3-O- β -D-glucuronid (VII) mit n-Natronlauge in der Kälte zu Chrysin-7-O- β -D-glucuronid (XLI). Das synthetische Chrysin-7-O- β -D-glucuronid stimmte im Zersetzungspunkt, in der optischen Drehung und UV-Spektrum mit den für das isolierte Produkt angegebenen Daten von MARSH⁴⁶⁾ überein.

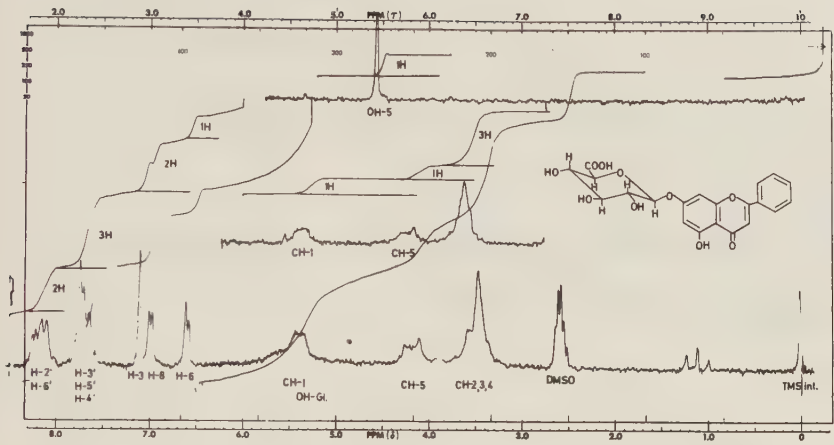


Abb. 13

NMR-Spektrum von Chrysin-7-O- β -D-glucuronid

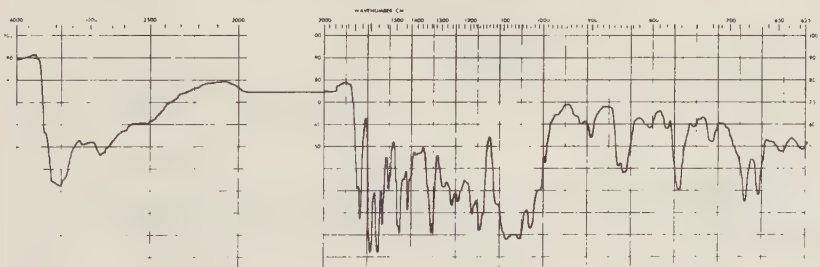


Abb. 14

IR-Spektrum von Chrysin-7-O- β -D-glucuronid

Analog wie beim Apigenin-7-O- β -D-glucuronid (XXXVI) erhielten wir durch Acetylierung von Chrysin-7-O- β -D-glucuronid (XLI) mit Acetanhydrid/Natriumacetat ein Chrysin-7-O- β -D-glucuronid-acetat (XLIII) vom Zersp. 146 - 148°C. Das NMR-Spektrum sprach für ein Triacetat.

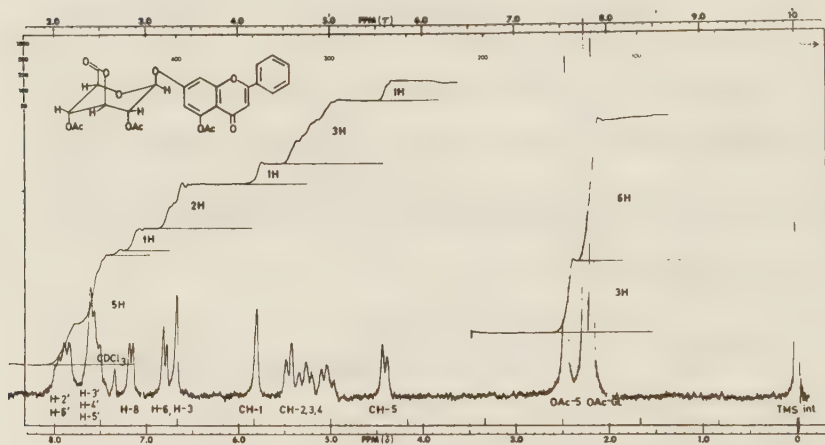


Abb. 15

NMR-Spektrum von Chrysin-7-O- β -D-glucuronid-triacetat

Das IR-Spektrum wies bei 1805 cm^{-1} eine Lactoncarbonylbande auf.

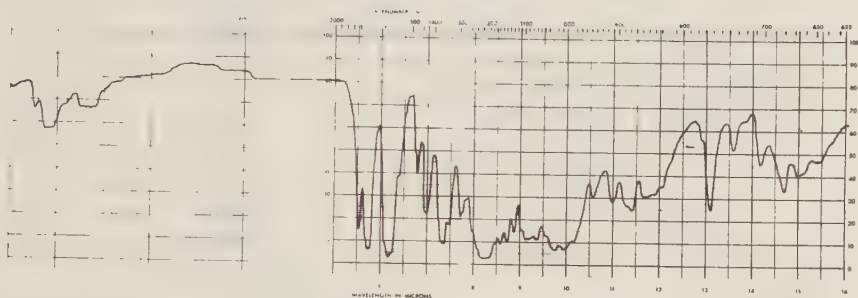


Abb. 16

IR-Spektrum von Chrysin-7-O-(β -D-glucuronid- γ -lacton)-triacetat

Das dargestellte Acetat war demnach das Chrysin-7-O-(β -D-glucuronid- γ -lacton)-triacetat (XLIII).

Durch Acetylierung mit Acetanhydrid/Zinkchlorid wurde das Chrysin-7-O- β -D-glucuronid-tetraacetat (XLII) vom Zersp. 210 - 212⁰C erhalten.

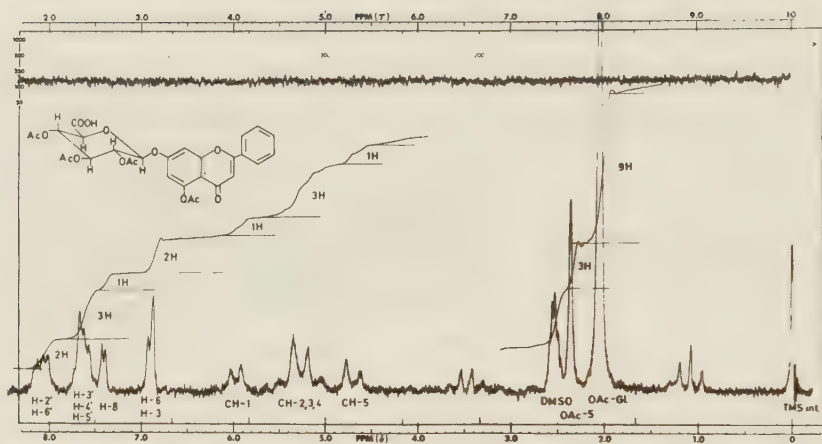


Abb. 17

NMR-Spektrum von Chrysin-7-O-β-D-glucuronid-tetraacetat

Das IR-Spektrum bestätigte wiederum das Vorliegen einer freien Carboxylgruppe.

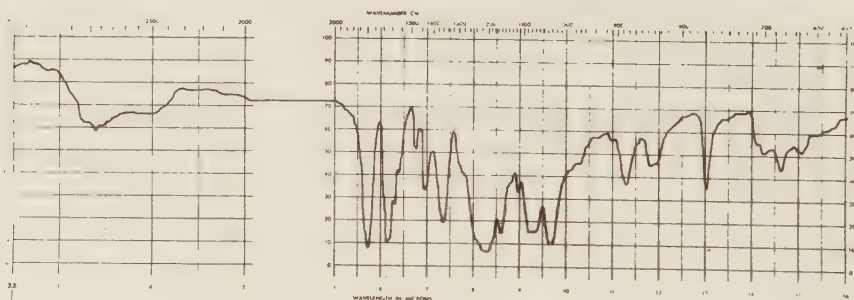
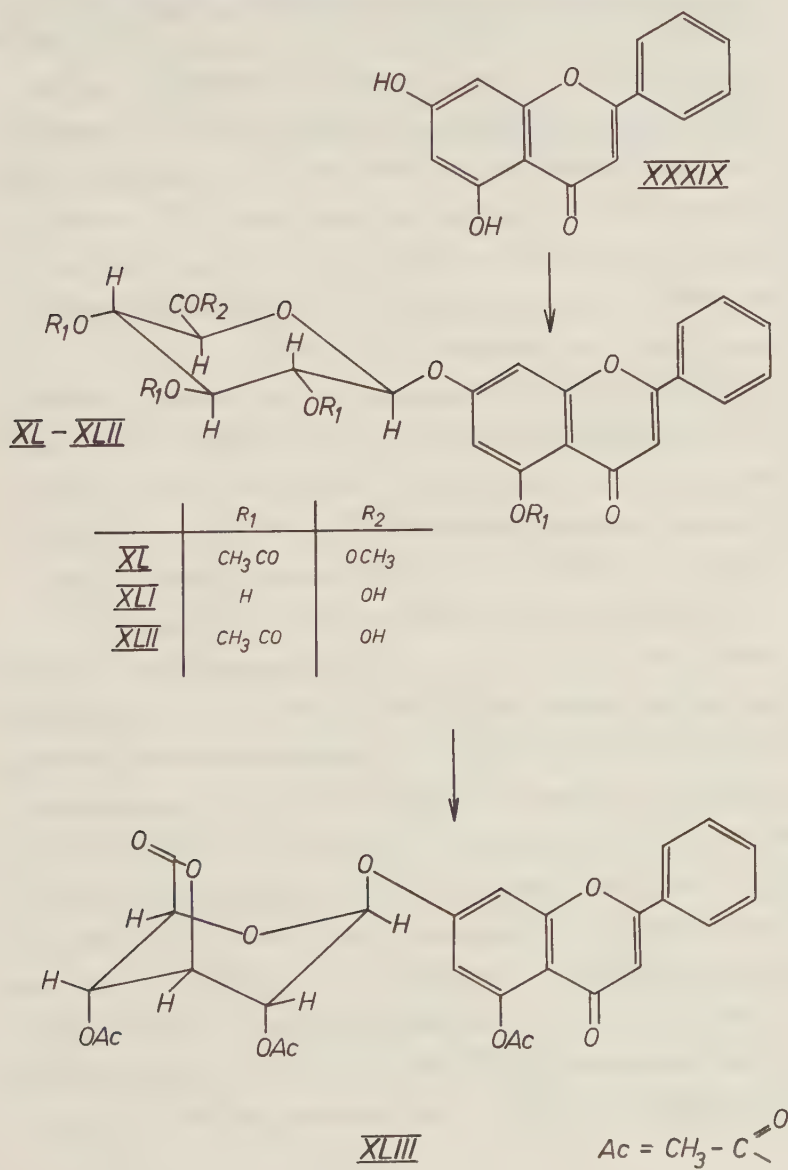


Abb. 18

IR-Spektrum von Chrysin-7-O-β-D-glucuronid-tetraacetat

Synthese von Chrysin - 7-O- β -D-glucuronid



VI. Synthese von 5,7,4'-Trihydroxy-flavon-7,4'-di-O-[β -D-glucopyranosiduronsäure] (Apigenin-7,4'-di-O- β -D-glucuronid)⁴⁷⁾:

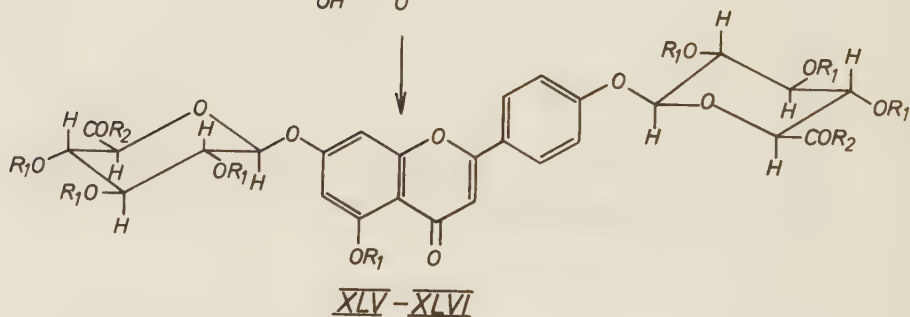
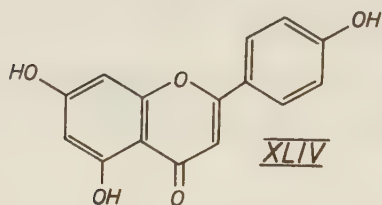
Apigenin-7,4'-diglucuronid wurde von HARBORNE⁴⁸⁾ aus den Blüten von *Antirrhinum majus* (Familie Scrophulariaceae) isoliert. Die enzymatische Spaltung mit β -Glucuronidase ergab Apigenin und Glucuronsäure im Verhältnis 1:2⁴⁸⁾. Um die Stellung des Zuckers in 7 und 4' zu beweisen, methylierte HARBORNE⁴⁸⁾ das Flavonglykosid. Die anschließende Hydrolyse lieferte den Apigenin-5-methyläther.

Zum Strukturbeweis von Apigenin-7,4'-diglucuronid kuppelten wir Apigenin (XLIV) mit einem Überschuß von α -Acetobromglucuronsäure-methylester⁴⁾ nach einer von uns modifizierten KOENIGS-KNORR-Methode³⁾ in Chinolin mit Silbercarbonat als Katalysator. Durch Chromatographie an einer Kieselgelsäule mit dem Laufmittel Benzol/Äthanol (9:1) wurden zwei partiell acetylierte Kupplungsprodukte erhalten. Die eine Verbindung lieferte bei der Weiteracetylierung das Pentaacetat des Apigenin-7-O- β -D-glucuronsäure-methylesters (XXXV), das von uns erst kürzlich auch auf einem anderen Weg hergestellt worden war³⁹⁾. Das zweite Glykosidvollacetat war das Apigenin-7,4'-di-O-(β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester)-heptaacetat (XLV). Aus diesem ließ sich durch vorsichtiges Verseifen mit n-Natronlauge in der Kälte in analoger Weise wie bei der Darstellung von Quercetin-3-O- β -D-glucuronid (VII) das Apigenin-7,4'-di-O- β -D-glucuronid (XLVI) herstellen. Die Verbindung stimmte in den

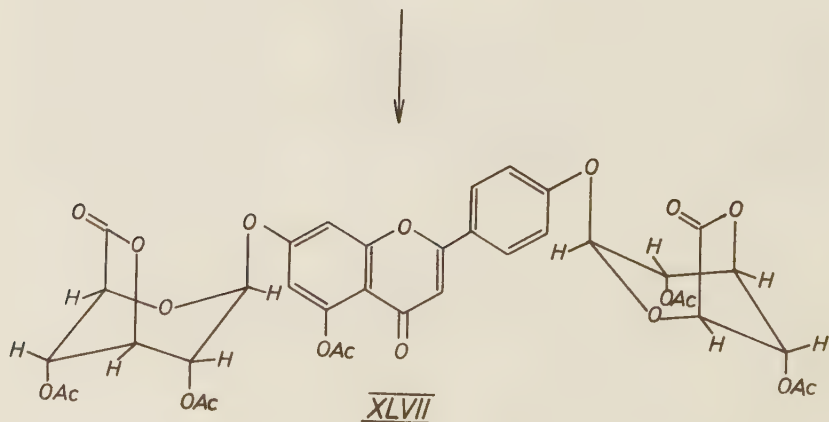
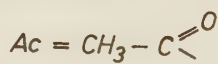
UV-spektroskopischen Daten mit den von HARBORNE⁴⁸⁾ angegebenen überein. Durch einen papierchromatographischen Vergleich zwischen isoliertem Naturstoff und synthetischer Substanz, ausgeführt von Prof. HARBORNE in 6 Lösungsmittelsystemen, konnte ebenfalls völlige Übereinstimmung erzielt werden.

Durch Acetylierung des Apigenin-7,4'-di-O- β -D-glucuronids in Acetanhydrid mit Natriumacetat erhielten wir das Apigenin-7,4'-di-O-(β -D-glucuronid- γ -lacton)-pentaacetat (XLVII). Damit war es erstmals gelungen, ein natürlich vorkommendes Diglucuronid zu synthetisieren.

Synthese von Apigenin-7,4'-di-O-β-D-glucuronid



	R_1	R_2
<u>XLV</u>	$\text{CH}_3 \text{ CO}$	OCH_3
<u>XLVI</u>	H	OH



VII. Synthese von 5,7,4'-Trihydroxy-3'-methoxy-flavon-7-0-
[β -D-glucopyranosiduronsäure] (Chrysoeriol-7-0- β -D-
glucuronid)⁴⁷⁾:

HARBORNE und Mitarb. isolierten Chrysoeriol-7-glucuronid aus *Antirrhinum majus*⁴⁸⁾ (Familie Scrophulariaceae), aus *Triticum*-Arten⁴⁹⁾ (Familie Gramineae), aus *Medicago sativa*⁵⁰⁾ (Familie Fabaceae) und aus *Tanacetum*-Arten⁴²⁾ (Familie Asteraceae). SALEH und Mitarb. stellten dieses Glucuronid als Inhaltsstoff von *Stipa lemmonii*⁵¹⁾ (Familie Poaceae) fest. Erst kürzlich gelang uns eine Isolierung von Chrysoeriol-7-glucuronid aus *Grindelia squarrosa*⁵²⁾ (Familie Asteraceae).

Zum Strukturbeweis von Chrysoeriol-7-glucuronid kuppelten wir Chrysoeriol (XLVIII) mit α -Acetobromglucuronsäure - methylester⁴⁾ nach der von uns modifizierten KOENIGS-KNORR-Methode³⁾ in Chinolin mit Silbercarbonat als Katalysator. Das dabei entstehende Gemisch von Kupplungsprodukten wurde vorgereinigt und mit Acetanhydrid/Natriumacetat nach der üblichen Methode acetyliert. Über DC-Kieselgelplatten mit Benzol/Äthylmethylketon (75:25) als Laufmittel konnten drei Acetate isoliert werden: Das Hauptprodukt mit dem R_F -Wert 0.31 war das gesuchte Chrysoeriol-7-0-(β -D-glucuronid-methylester)-pentaacetat (II). Die Nebenprodukte mit den R_F -Werten 0.26 bzw. 0.13 wurden durch ihre NMR-Spektren als Chrysoeriol-4'-0-(β -D-glucuronid-methylester)-pentaacetat (LII) und Chrysoeriol-7,4'-di-

O-(β -D-glucuronid-methylester)-heptaacetat (LIII) identifiziert.

Das Chrysoeriol-7-O-(β -D-glucuronid-methylester)-pentaacetat (II) wurde mit n-Natronlauge in der Kälte vorsichtig zum Chrysoeriol-7-O- β -D-glucuronid (I) verseift.

Ein Vergleich des Schmelzpunktes, der optischen Drehung und der anderen Daten des Syntheseproduktes mit denen des aus *Grindelia squarrosa* L.⁵²⁾ isolierten Naturstoffes brachte völlige Übereinstimmung.

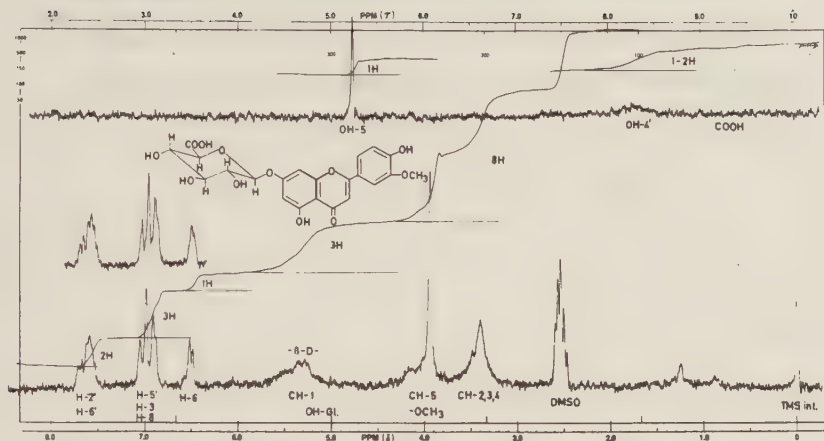


Abb. 21

NMR-Spektrum von Chrysoeriol-7-O-β-D-glucuronid

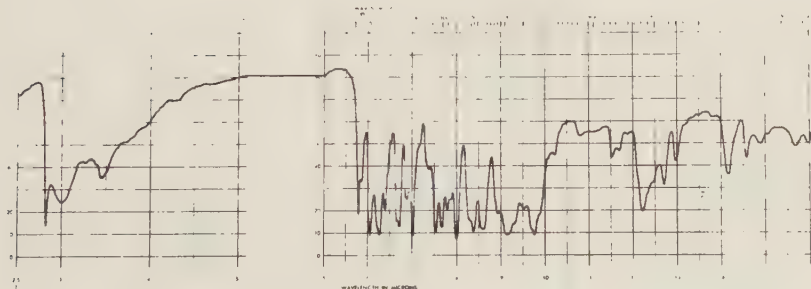
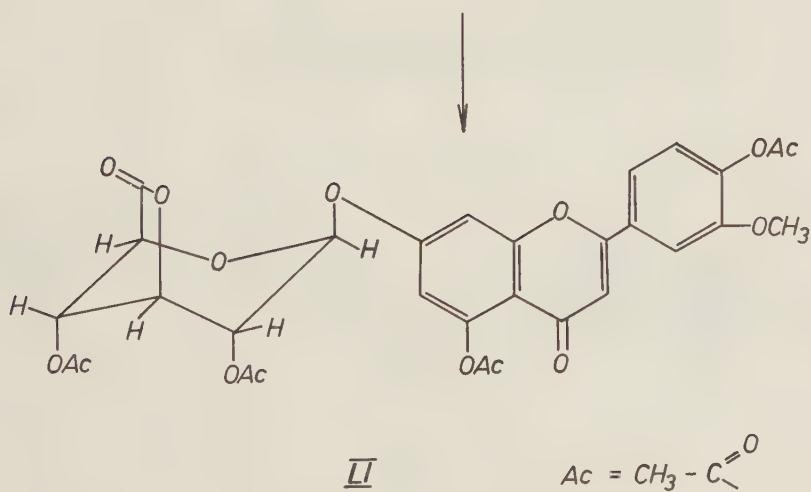
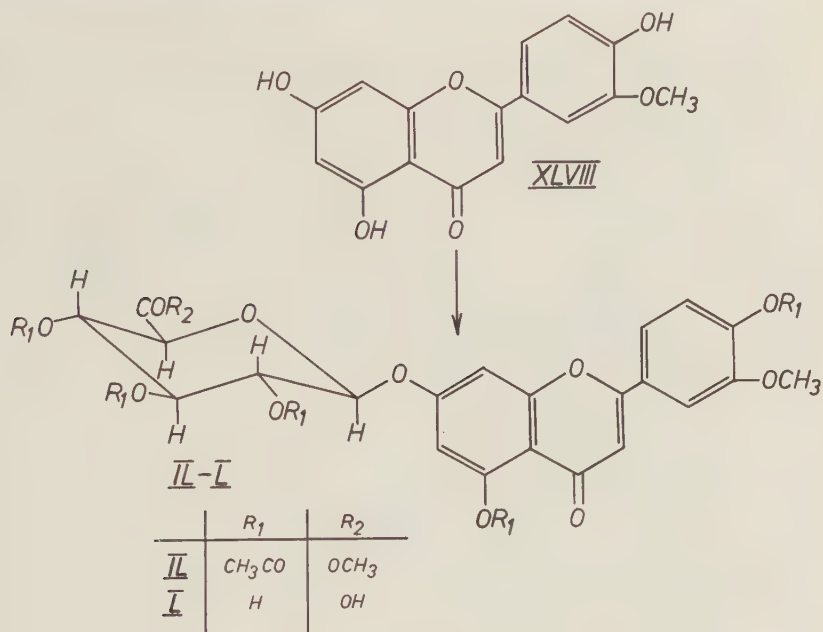


Abb. 22

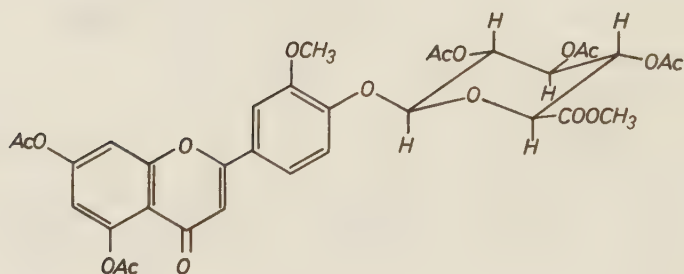
IR-Spektrum von Chrysoeriol-7-O-β-D-glucuronid

Durch Acetylierung von Chrysoeriol-7-O- β -D-glucuronid mit Acetanhydrid/Natriumacetat erhielten wir Chrysoeriol-7-O-(β -D-glucuronid- γ -lacton)-tetraacetat (LI). Auch dieses Derivat stimmte in allen Daten mit dem aus dem Naturstoff hergestellten Acetat überein.

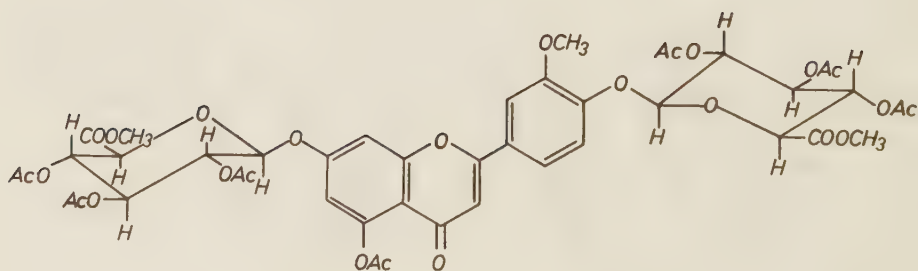
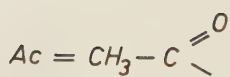
Synthese von Chrysoeriol - 7-O- β -D-glucuronid



Nebenprodukte der Synthese von Chrysoeriol-7-O-β-D-glucuronid



LII



LIII

VIII. Die Ringstruktur von Glucuronsäure, Flavonglucuroniden

und deren Acetate:

Aus wässriger Lösung kristallisiert die Glucuronsäure als γ -Lacton in der Furanoseform, nämlich als D-Glucofuranosiduronsäure-3,6-lacton⁵³⁾. Durch Behandlung dieses Lactons mit Bariumhydroxid und anschließende Hydrolyse des Salzes mit Schwefelsäure gelingt es ihre Pyranoseform, die freie β -D-Glucopyranosiduronsäure⁵³⁾, darzustellen. Die gleiche Änderung der Ringstruktur von der Furanose- zur Pyranoseform tritt ein bei der Darstellung des β -D-Glucopyranosiduronsäure-methylesters aus D-Glucofuranosiduronsäure-3,6-lacton nach der Vorschrift von BOLLENBACK und Mitarb.⁴⁾. Das Agens, das in dieser Reaktion diese Änderung bewirkt oder katalysiert, ist Natriummethylat. Anschließende Acetylierung und Bromierung des Glucuronsäure-methylesters liefert den 2,3,4-Tri-O-acetyl- α -D-bromglucopyranosiduronsäure-methylester (LIV), dessen Pyranoseform eindeutig durch sein NMR-Spektrum (siehe Abb. 23) bewiesen werden konnte.

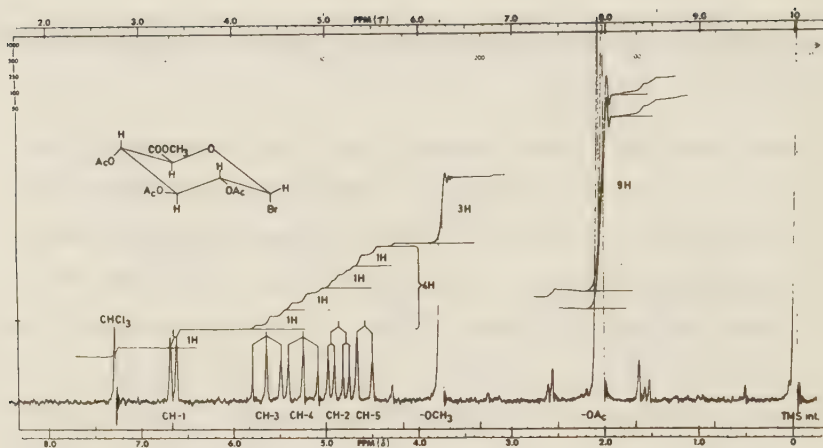


Abb. 23

NMR-Spektrum von 2,3,4-Tri-O-acetyl- α -D-bromglucopyranosiduronsäure-methylester

Auswertung des NMR-Spektrums im Bereich δ 4,5 bis 6,7 ppm ergibt nachfolgende Zuordnung:

T a b e l l e 1

NMR (CDCl₃, int. TMS):

Zuckerprotonen	δ -Werte in ppm	Kopplungskonstante
CH-5	4.60	(d, $J_{ax/ax} = 10$ Hz)
CH-4	5.25	(t, $J_{ax/ax} = 10$ Hz)
CH-3	5.68	(t, $J_{ax/ax} = 10$ Hz)
CH-2	4.87	(q, $J_{ax/ax} = 10$ Hz $J_{ax/eq} = 4$ Hz)
CH-1	6.67	(d, $J_{eq/ax} = 4$ Hz)

Hätte der α -Acetobromglucuronsäure-methylester in der Furanoseform vorgelegen, so müßten die Kopplungskonstanten wesentlich kleinere Werte als 10 aufweisen, da die Diederwinkel dann nicht 180° betragen.

Die Kupplung des pyranosiden α -Acetobromglucuronsäure-methylesters mit Flavonoiden nach der KOENIGS-KNORR-Methode³⁾ und die anschließende Acetylierung mit Acetanhydrid/Natriumacetat lieferte die Flavon- β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester-acetate. Aus dem Vergleich dieser NMR-Spektren mit dem des α -Acetobromglucuronsäure-methylesters ergab sich die Pyranosestruktur auch für die Glucuronide. Außerdem ist in der Literatur niemals über eine Änderung der Ringstruktur unter den Bedingungen der KOENIGS-KNORR-Synthese berichtet worden. Durch anschließende Verseifung der Flavonoid-glucuronid-methylester-acetate mit Natronlauge in einer Aceton-Wassermischung und anschließendem Ansäuern wurden die freien Flavonglucuronide erhalten. Da in der Literatur glykosidisch gebundene Glucuronide sowohl in der Furanoseform⁵⁴⁾ wie in der Pyranoseform^{55,56)} beschrieben wurden, war noch zu beweisen, ob durch die Verseifung eine Änderung in der Ringstruktur des Glucuronsäureanteils eingetreten war. Einen Hinweis, daß die pyranoide Ringstruktur erhalten geblieben war, gab die Beobachtung von WATKIN⁵⁷⁾, der feststellte, daß nur die freie Glucuronsäure in der furanoiden Form stark zur γ -Lactonbildung neigt. In den IR-Spektren der Flavonoidglucuronide konnten wir aber in keinem Fall eine Lactoncarbonylbande feststellen.

Den eigentlichen Beweis, daß bei der Verseifung die pyranoiden Ringstruktur des Glucuronsäureanteils erhalten geblieben war, lieferten die NMR-Spektren. In ihnen zeigten die Zuckerprotonen CH-1,2,3,4 und 5 gegenüber den NMR-Spektren der Flavon- β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester-acetate keinerlei wesentliche Abweichung. Auch mit dem 2,3,4-Tri-O-acetyl- α -D-brom-glucopyranosiduronsäure-methylester stimmten sie, das CH-1 ausgenommen, gut überein.

Zur weiteren Beweisführung wurden die Acetate der synthetischen Flavonoidglucuronide dargestellt, denn unter den Bedingungen einer Acetylierung sollte keine Änderung der Ringstruktur eintreten⁵⁸).

Bei der Acetylierung von Apigenin-7-O- β -D-glucuronid (XXXVI) mit Acetanhydrid/Natriumacetat wurde, wie im Kapitel IV ausgeführt, das Apigenin-7-O- β -D-glucuronid-tetraacetat (XXXVIII), mit Acetanhydrid/Zinkchlorid dagegen das Apigenin-7-O- β -D-glucuronid-pentaacetat (XXXVII) erhalten. Analog war bei der Acetylierung von Chrysin-7-O- β -D-glucuronid (XLI) (Kapitel V) mit Acetanhydrid/Natriumacetat Chrysin-7-O- β -D-glucuronid-triacetat (XLIII) und mit Acetanhydrid/Zinkchlorid das Chrysin-7-O- β -D-glucuronid-tetraacetat (XLII) entstanden.

Durch die NMR- und IR-Spektren konnte bewiesen werden, daß nach der ersten Acetylierungsmethode das Acetat der β -Lactonform, nach dem 2. Verfahren das Acetat des freien Glucuronids gebildet worden war. Bei den nach der ersten Methode erhaltenen Glykosidacetaten bestand kein Zweifel am Vorliegen der Pyranoseform, da die Zuckerprotonen CH-2,3,4 und 5 im NMR-Spektrum von

denen des 2,3,4-Tri-O-acetyl- α -D-bromglucopyranosiduronsäure-methylesters keinerlei Abweichung zeigten. Bei dem Acetat der γ -Lactonform war dagegen auf diesem Wege nicht eindeutig zu entscheiden, ob die Furanose- oder die Pyranoseform vorlag. Eine Klärung war nur möglich durch Vergleich der NMR-Spektren mit Modellglucuroniden, in denen einmal die Furanose-, ein andermal die Pyranoseform gebunden vorlag. Zu diesem Zwecke synthetisierten wir das bereits bekannte Naphthol-2-(2,5-di-O-acetyl- β -D-glucofuranosiduronsäure-3,6-lacton) (LV) nach einer von TSOU und SELIGMAN⁵⁾ modifizierten HELFERICH-Methode⁷⁾ durch Zusammenschmelzen von β -Naphthol mit 1,2,5-Tri-O-acetyl- β -D-glucofuranosiduronsäure-3,6-lacton⁵⁹⁾ und als zweite Verbindung das Naphthol-2-O-(2,4-di-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-3,6-lacton) (LVI), indem wir β -Naphthol nach einer modifizierten KOENIGS-KNORR-Methode³⁾ mit 1-Desoxy-1- α -D-brom-2,3,4-tri-O-acetyl-glucopyranosiduronsäure-methylester⁴⁾ kuppelten, das Kupplungsprodukt mit n-Natronlauge in der Kälte verseiften und dieses wieder mit Acetanhydrid/Natriumacetat nach der üblichen Methode acetylierten.

Nachstehend sind Ausschnitte aus den beiden NMR-Spektren mit dem zur Diskussion stehenden Bereich wiedergegeben:

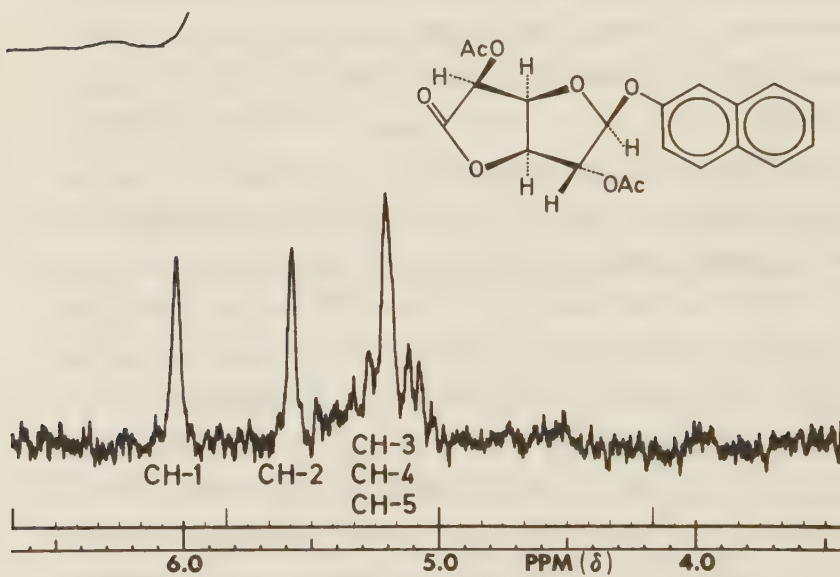


Abb. 24

Ausschnitt eines NMR-Spektrums (CDCl_3) von Naphthol-2-O-(2,5-di-O-acetyl- β -D-glucofuranosiduronsäure-3,6-lacton)

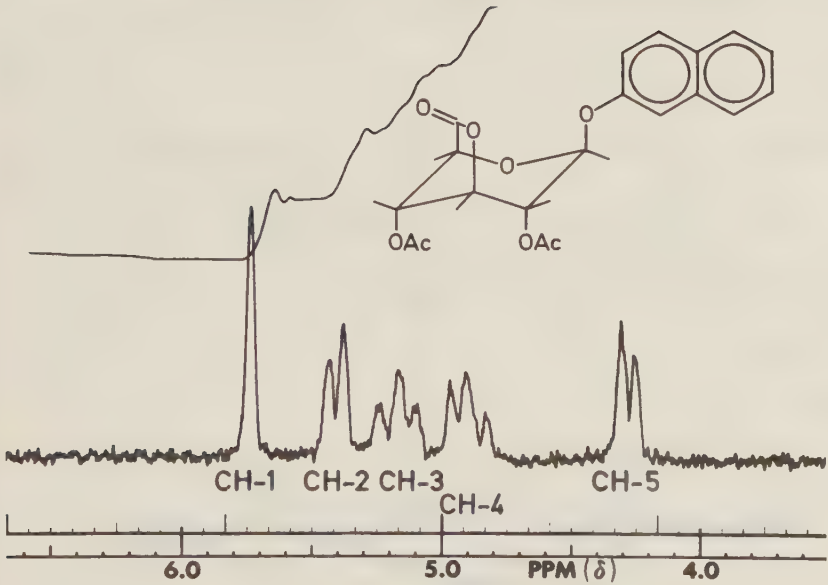


Abb. 25

Ausschnitt eines NMR-Spektrums (CDCl_3) von Naphthol-2-O-(2,4-di-O-acetyl-glucopyranosiduronsäure-3,6-lacton)

Das NMR-Spektrum des Naphthol-2-O-(2,5-di-O-acetyl- β -D-glucofuranosiduronsäure-3,6-lactons) liefert im Bereich $\delta = 4.2$ bis $\delta = 6.1$ ppm die Signale für die Zuckerprotonen CH-3,4,5 bei $\delta = 5.00$ bis 5.5 ppm (m), für CH-2 $\delta = 5.56$ ppm (s) und für CH-1 $\delta = 6.01$ ppm (s).

Ein Vergleich mit dem entsprechenden Bereich des Apigenin-7-O-(β -D-glucuronid- γ -lacton)-tetraacetates (XXXVIII) zeigte aber keinerlei Übereinstimmung oder Ähnlichkeit.

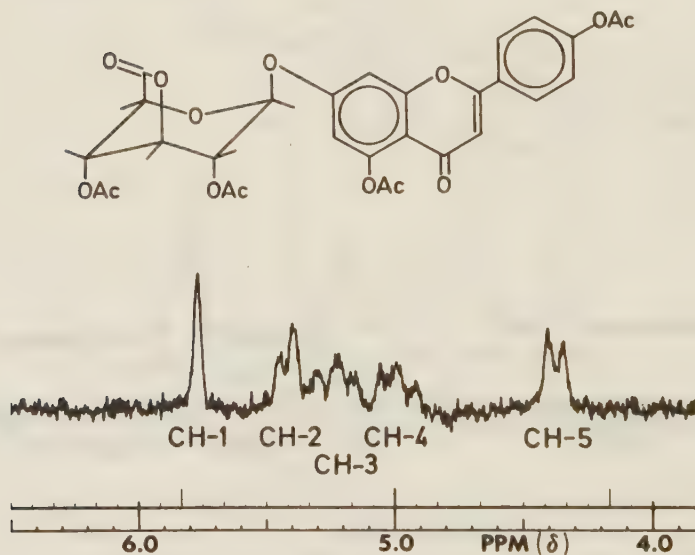


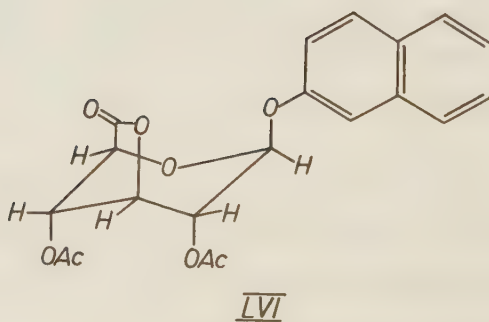
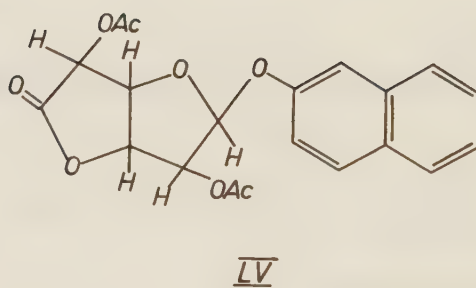
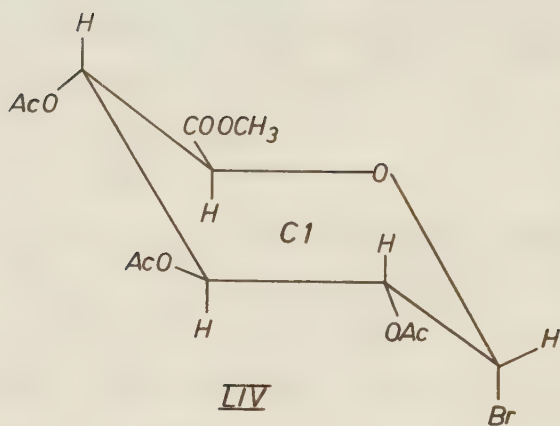
Abb. 26

Ausschnitt eines NMR-Spektrums (CDCl_3) von Apigenin-7-O-(β -D-glucuronid- γ -lacton)-tetraacetat

T a b e l l e 2

Zucker- protonen	Naphthol-2-0-(2,5- di-0-acetyl-β-D- glucofuranosiduron- säure-3,6-lacton)	Naphthol-2-0-(2,4- di-0-acetyl-glucopyranosiduronsäure- 3,6-lacton)	Apigenin-7- 0-(β-D-glucuronid-γ-lac- ton)-tetraacetat
CH-5		$\delta = 4.30 \text{ ppm}$ (d, J = 3 Hz)	$\delta = 4.37 \text{ ppm}$ (d, J = 4 Hz)
CH-4	$\delta = 5.00 -$ 5.5 ppm(m)	4.91 (t, J = 3 Hz)	5.0 (t, J = 4 Hz)
CH-3		5.18 (t, J = 3.5 Hz)	5.21 (t, J = 4 Hz)
CH-2	5.56 (s)	5.43 (d, J = 3.5 Hz)	5.42 (d, J = 4 Hz)
CH-1	6.01 (s)	5.75 (s)	5.79 (s)

Wie aber die Abb. 25 und Tabelle 2 deutlich zeigen, ist das NMR-Spektrum des Naphthol-2-0-(2,4-di-0-acetyl-glucopyranosiduronsäure-3,6-lactons) (LVI) in dem Bereich der Zuckerprotonen mit dem des Apigenin-7-0-(β-D-glucuronid-3,6-lacton)-tetraacetates (XXXVIII)(Abb. 26) nahezu deckungsgleich. Damit ist bewiesen, daß auch der Glucuronsäure in den Glykosidacetaten die Pyranosestruktur zukommt. Die Lactonbildung ist nur erklärbar, wenn man annimmt, daß sich die ursprünglich auch in dem α-Acetobromglucuronsäure-methylester vorgelegene C1-Konformation in die 1C-Form umgewandelt hat.



IX. Diskussion über NMR-, IR- und Massenspektren von Flavonglucuroniden:

1. NMR-Spektren:

Bei der Aufnahme der NMR-Spektren von Flavonglucuroniden in Dimethylsulfoxid fanden wir die Aglykonsignale an der gleichen Stelle wie bei allen Flavonglykosiden.

Die Glucuronsäure in glykosidischer Bindung zeigte folgende Besonderheiten:

Das CH-1 war paramagnetisch verschoben nach $\delta = 5,5$ ppm. Es war aber zumeist durch die Signale der Hydroxylgruppen verdeckt.

Die Signale für die Zuckerprotonen CH-2,3,4,5 lagen zwischen $\delta = 3$ und $\delta = 4$ ppm.

Das Säureproton erschien nie als gesondertes Signal, sondern immer zusammen mit den phenolischen Hydroxylgruppen bei $\delta = 8$ ppm bis $\delta = 10$ ppm mit einem Zentrum bei etwa $\delta = 9$ ppm.

Bei den 7-Glucuroniden lag das CH-5-Signal abgetrennt von CH-2,3,4 bei $\delta = 4,0$. Auch das CH-1-Signal erschien nicht bei $\delta = 5,5$ ppm, sondern bei $\delta = 5,3$ ppm.

Durch den Austausch mit Deuterotrifluoressigsäure wurden die Hydroxylgruppen aus dem Zuckerbereich verschoben, so daß eine Integration der Zuckerprotonen durchführbar war. Damit ist eine klare Unterscheidung zwischen Mono- und Diglucuroniden möglich.

Aus der Breite des CH-1 Signals war auf eine β -D-Glucuronidbindung zu schließen.

2. IR-Spektren:

In den IR-Spektren der freien Glucuronide liegt die Carboxylgruppe zwischen $1700 - 1750 \text{ cm}^{-1}$ und die Hydroxylgruppe als breite Bande zwischen 2200 und 3000 cm^{-1} .

Bei Di-glucuroniden ist die Absorption zwischen $1000 - 1100 \text{ cm}^{-1}$ sehr stark verschmiert und sehr breit.

3. Massenspektren:

Vor der Messung im Massenspektrographen wurden die Flavon-glucuronide nach der Methode von HAKOMORI⁶⁰⁾ mit Natriumhydrid und Methyljodid in Dimethylformamid unter Stickstoffatmosphäre in die Permethyläther übergeführt. Die Glucuronsäure wurde dabei in den Methylester umgewandelt.

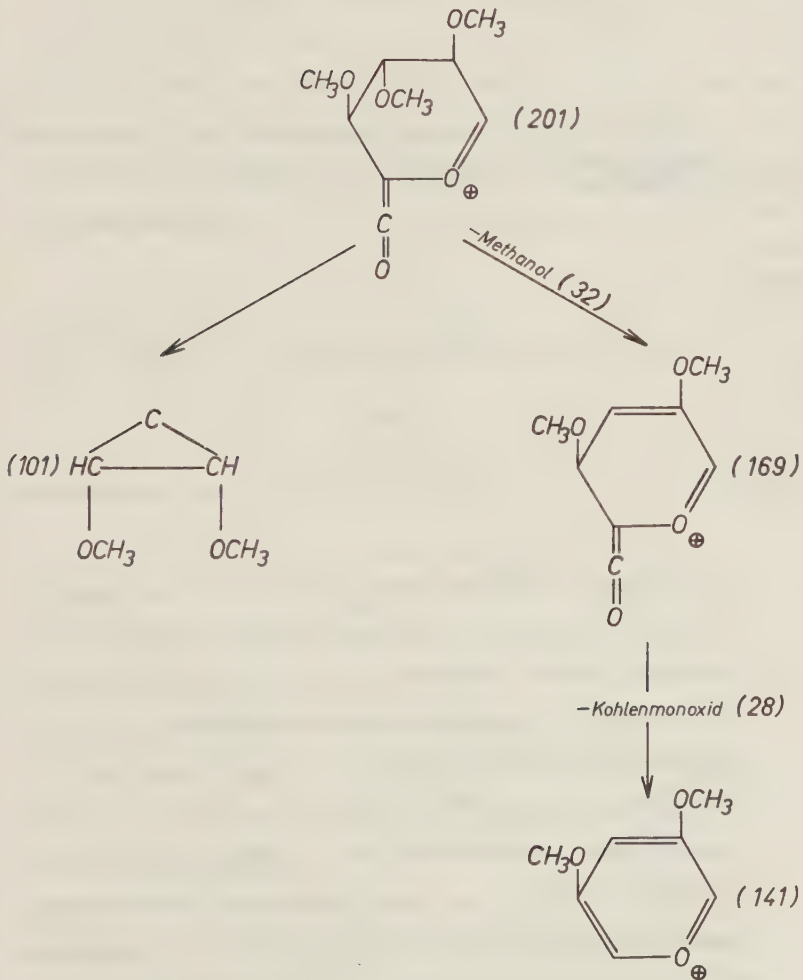
Bei der Auswertung der Massenspektrogramme konnten wir folgende übereinstimmende Besonderheiten feststellen:

- a) Aus dem Methylester des permethylierten Flavonglucuronids spaltet sich immer Methanol (32) ab.
- b) Neben dem Aglykonbruchstück entsteht immer ein für die Glucuronide typisches Zuckerfragmentation mit der Massenzahl 201, das seinerseits wieder in das Fragmentation 101 zerfällt.

Durch Methanolabspaltung (32) entsteht das Fragmentation 169 und weiter durch Kohlenmonoxidabspaltung (28) das Fragmentation 141.

Das Fragmentation 101 tritt bei jeder Fragmentierung eines permethylierten Zuckers bzw. Glykosids auf⁶¹⁾.

Fragmentierung der Glucuronsäure



- c) Aus der relativen Intensität des Molekülpeaks zum Aglykon (rel. Int. = 100%) ist die Zuckerstellung ableitbar.⁶²⁾

T a b e l l e 3

Flavon-glucuronid	Summenformel des Aglykonfragmentions + H	M ⁺	relative Intensität in %
Quercetin-3-glucuronid	358	590	2
Chrysoeriol-7-glucuronid	328	560	45

Je höher die relative Intensität eines Molekülpeaks ist, umso stabiler ist die glykosidische Bindung und umgekehrt. Dieses Postulat, das durch Massen-Spektren zahlreicher Flavonglykoside untermauert wurde, war in Einklang mit den Ergebnissen der enzymatischen und chemischen Hydrolyse¹⁸⁾. Besonders wertvoll ist diese Methode auch zur Aufklärung von Bisglykosiden mit verschiedenen Zuckern. Aus dem Verlauf der Fragmentierung kann man auf die Zuckerart und auf Grund der relativen Molekül-Peak-Intensitäten auf die Stellung des betreffenden Zuckers Rückschlüsse ziehen⁶²⁾.

Flavon-3-O-glykoside sind leichter spaltbar als Flavon-7-O-glykoside. Dies ist besonders bei den Flavon-7-O-glucuroniden auffallend. Diese lassen sich nämlich nur auf enzymatischem Wege einigermaßen quantitativ spalten. Säurehydrolyse führt nur zu einer teilweisen Spaltung. Wie die Tabelle 3 zeigt, weist das Molekülion des Chrysoeriol-7-O-glucuronids demzufolge auch eine größere Stabilität auf als das Quercetin-3-O-glucuronid.

C. EXPERIMENTELLER TEIL

I. Allgemeine Verfahren

1. Chromatographie

a) Dünnschichtchromatographie mit Kieselgel

α) Geräte

Wir verwendeten Spiegelglasplatten der Größe 20x12 cm. Als Kammern dienten dickwandige Rundgläser von 15 cm Durchmesser und 25 cm Höhe, die mit Glasplatten abgedeckt wurden.

Hergestellt wurden die Platten, indem wir 30 g DC-Kieselgel $H_{254} + 366$ für die Dünnschichtchromatographie (Fa. Merck) mit 100 ml Äthylacetat aufschlemmten und die Suspension auf 10 Platten verteilten. Nach dem Trocknen an der Luft waren die Platten gebrauchsfertig.

β) Laufmittel (DC-Kieselgel)

Toluol/Äthylacetat (5:4)

Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser (10:2:3)

Butanol/Eisessig/Wasser (6:1:2)

Benzol/Pyridin/Ameisensäure (72:18:10)

Benzol/Äthanol (9:1)

γ) Auswertung

Die entwickelten Dünnschichtplatten wurden nach dem Trocknen unter dem UV-Licht betrachtet und anschließend mit einem der folgenden Reagenzien besprüht:

1%-ige methanolische Eisen-III-chlorid-Lösung oder

1%-ige Vanillin-Schwefelsäure.

b) Säulenchromatographie mit Kieselgel

Wir verwendeten Glassäulen der Größe 35 x 7 cm bzw. 70 x 6 cm. Mit dem entsprechenden Laufmittel schlemmten wir Kieselgel 60 Merck (Korngröße 0.063-0.200 mm) für die Säulenchromatographie in die betreffende Säule ein und regulierten die Abtropfgeschwindigkeit auf 15 Tropfen pro Minute.

Für die Chromatographie wurden die Lösungsmittelgemische verwendet:

Toluol/Äthylacetat (5:4)

Benzol/Äthanol (9:1)

2. Allgemeine physikalische Untersuchungsmethoden

a) Schmelzpunkte

Wir trockneten die Substanzen bei den den Schmelzpunkten angepaßten Temperaturen in der Trockenpistole über Diphosphorpentoxid und bestimmten den Schmelzintervall mit dem Mikroschmelzpunktapparat nach Kofler. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert.

b) Optische Drehung

Die optische Drehung wurde im lichtelektrischen Polarimeter der Fa. Carl Zeiss (LEP A2) gemessen. Die Konzentration betrug etwa 1 % in Pyridin/Wasser (1:1). Schichtdicke 0.5 dm.

c) UV-Spektren

Die Ultraviolett-Absorptionsspektren wurden mit einem automatisch registrierenden Spektralphotometer Beckman-DK-2A aufgenommen. Die Einwaagen betrugen 1 - 2

mg auf 100 ml Methanol p.a.; die Schichtdicke betrug 1 cm.

d) IR-Spektren

Die Infrarot-Spektren wurden mit einem Beckman-Infrarot-Spektrometer IR 8 in Kaliumbromid gemessen. Konzentration 1 - 1,5 mg Substanz pro 150 mg Kaliumbromid.

e) Wassergehaltsbestimmung

Etwa 10 mg Substanz wurden nach Vortrocknung über Diphosphorpentoxid bei möglichst hoher Temperatur im Hochvakuum getrocknet. Nicht abgegebenes Kristallwasser wurde nach KARL FISCHER tetrimetrisch bestimmt. Einwaage etwa 3 - 5 mg.

f) Mikroanalysen

Die Bestimmungen wurden im Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München durchgeführt.

g) NMR-Spektren

Die Kernresonanzspektren wurden mit einem Varian A-60 A Kernresonanzspektrometer aufgenommen. Als Lösungsmittel für etwa 40 mg Substanz wurden 0,5 ml Deuterochloroform $[\text{CDCl}_3]$ oder Hexadeuterodimethylsulfoxid $[(\text{CD}_3)_2\text{SO}]$ verwendet.

h) Massen-Spektren

Die Spektren wurden mit einem Massenspektrographen MS 30 der Firma A.E.I., Manchester, aufgenommen.

Für die Ausführungen der Bestimmungen b) bis h) danken wir sehr herzlich Herrn O.SELIGMANN und Frau G.BOHM, Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München.

3. Allgemeine chemische Syntheseverfahren

a) Acetylierung

Die betreffende Substanz wurde in der 10-fachen Menge einer Mischung von Acetanhydrid/wasserfreies Natriumacetat (10:1) bzw. Acetanhydrid/wasserfreies Pyridin (10:1) auf dem Dampfbad etwa 1 Std. erwärmt und anschließend noch 5 Min. unter Rückfluß gekocht. Danach wurde das Reaktionsgemisch langsam in die 10-fache Menge Wasser eingerührt. Nach 12-stdg. Stehen wurde der inzwischen festgewordene Niederschlag abfiltriert, gut mit Wasser nachgewaschen und aus dem im Versuchsteil angegebenen Lösungsmittel umkristallisiert.

b) Benzylierung

Die Substanz wurde in frisch über Calciumchlorid und geglühtem Kaliumcarbonat destilliertem Aceton gelöst und mit geglühtem Kaliumcarbonat und Benzylchlorid (die Reinigung erfolgte über eine mit frisch geglühtem Kaliumcarbonat gefüllte Säule) bei Anwesenheit von frisch getrocknetem Kaliumjodid, solange am Rückfluß erhitzt, bis chromatographisch das gewünschte Umsetzungsprodukt entstanden war.

Die noch heiße Lösung wurde dann abfiltriert und das zurückbleibende Kaliumcarbonat mehrmals mit heißem trockenem Aceton ausgewaschen. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels im Vakuum bearbeiteten wir den öligen Rückstand mehrmals mit Hexan, bis das Hexan nicht mehr getrübt und kein Geruch nach Benzylchlorid mehr festzustellen war. Die inzwischen festgewordene Masse wurde anschließend umkristallisiert.

c) Hydrierung

Die Substanz wurde in Äthylacetat gelöst und eine angepaßte Menge Palladiumkohle zugegeben. Nun wurde unter Wasserstoffatmosphäre solange gerührt, bis chromatographisch das Ausgangsprodukt nicht mehr vorhanden war. (Durch gelindes Erwärmen konnte die Reaktion beschleunigt werden). Anschließend wurde die Kohle von der Lösung abfiltriert und die Lösung im Vakuum zur Trockne gebracht.

d) Darstellung von Silberoxid:

In 1 l 10 proz. Silbernitratlösung ließen wir 10 proz. Natronlauge solange eintropfen, bis sich kein dunkelbraunes Silberoxid mehr abschied. (Verbrauch etwa 300 ccm 10 proz. Natronlauge). Dann nutschten wir den Niederschlag ab und schlemmten ihn mit Wasser mehrmals auf, bis das Waschwasser neutral reagierte. Anschließend wuschen wir den Niederschlag mit trockenem Aceton und dann mit trockenem Äther. Aufbewahrt wurde

Silberoxid unter Lichtabschluß im Exsikkator.

e) Darstellung von α -Acetobromglucuronsäure-methylester-acetat⁴⁾:

α) β -D-Tetraacetyl-glucopyranosiduronsäure-methylester

0.4 g Natriumhydroxidplättchen lösten wir in 850 ccm Methanol und gaben langsam unter Rühren 100 g Glucuronsäure- γ -lacton zu und zwar in so kleinen Anteilen, daß der pH-Wert nicht unter 8 sank. Nach 1 Std. Rühren bei Zimmertemperatur wurde das Methanol im Vakuum abgedampft und der zähfließende Rückstand an der Vakuumpumpe getrocknet. Anschließend lösten wir diesen unter starkem Kühlen in 250 ccm Pyridin und gaben zu der Lösung langsam unter Rühren im Eisbad 375 ccm Acetanhydrid. Dieses Gemisch wurde verschlossen 12 Stdn. in den Eisschrank bei 4°C gestellt. Dann verdünnten wir mit der 3-fachen Menge Wasser, nutschten den entstandenen Niederschlag ab, wuschen ihn mehrmals mit Wasser und kristallisierten ihn aus Äthanol (Kohle) um. Schmp. 176 - 178°C (Lit.⁴⁾: 176,5 - 178°C)
Ausb. 115 g (Lit.⁴⁾: 91 g)

B) 2,3,4-Tri-O-acetyl-1-desoxy-1- α -D-bromglucopyranosiduronsäure-methylester (α -Acetobromglucuronsäure-methylester):

50 g β -D-Tetraacetyl-glucopyranosiduronsäure-methylester wurden in 250 ccm Eisessig gelöst. Zu der Lösung gaben wir 150 ccm 40 proz. Bromwasserstofflösung

in Eisessig zu und stellten das Gemisch verschlossen in den Eisschrank bei 4°C . Nach 12 Stdn. nahmen wir das Reaktionsgemisch in 250 ccm Chloroform auf. Anschließend schüttelten wir die Chloroformlösung zweimal mit Eiswasser, fünfmal mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung und wieder fünfmal mit Eiswasser aus, bis ein pH 7 erreicht wurde. Nun wurde die Chloroformlösung mit Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Vakuum eingedampft. Den Rückstand lösten wir bei Zimmertemperatur unter Rühren in etwa 750 ccm Äthanol. Nach der Klärung mit Kohle stellten wir die Lösung in den Eisschrank bei 4°C . Nach 12 Stdn. saugten wir die Kristalle ab, wuschen sie mit Petroläther, verrieben sie und wuschen sie abermals mit Petroläther.

Schmp. $101 - 103^{\circ}\text{C}$ (Lit.⁴⁾: $106 - 107^{\circ}\text{C}$)

Ausb. 37,5 g (Lit.⁴⁾: 45,0 g)

II. Synthese von Quercetin-3-O- β -D-glucuronid¹²⁾:

1. 3,5,7,3',4'-Pentaacetoxy-flavon (Quercetin-pentaacetat)(II):

100 g Quercetin (I) der Fa.E.Merck, Darmstadt, wurden in 400 ccm Acetanhydrid und 40 ccm Pyridin gelöst und 1 Std. am Rückfluß unter Feuchtigkeitsausschluß erhitzt. Nach üblicher Aufarbeitung erhielten wir aus Aceton farblose filzige Nadeln vom Schmp. 190°C (Lit.²⁹⁾: 193 - 194°C) Ausb. 128 g (75% d.Th.).

2. 3,5,3'-Triacetoxy-4',7-dibenzyl-oxy-flavon (7,4'-Dibenzyl-quercetin-triacetat)(III):

Nach der üblichen Benzylierungsmethode lösten wir 20 g Quercetin-pentaacetat (II) in 400 ccm Aceton und gaben 4 g Kaliumjodid, 50 g Kaliumcarbonat und 20 ccm Benzylchlorid zu. Wir kochten das Gemisch 90 Stdn. unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß, wobei wir ständig chromatographisch den Reaktionsablauf verfolgten. (DC-Kieselgel: Toluol/Äthylacetat 5:4). Nach Beendigung der Reaktion wurde das Reaktionsgemisch nach üblicher Weise aufgearbeitet. Aus Aceton/Methanol erhielten wir farblose Kristalle. Schmp. 154 - 156°C (Lit.³⁰⁾: 155 - 156°C) Ausb. 13 g (55% d.Th.)

3. 3,5,7-Trihydroxy-7,4'-dibenzyl-oxy-flavon (Dibenzyl-quercetin)(IV):

12 g 3,5,7-Triacetoxy-7,4'-dibenzyl-oxy-flavon (III) wurden in 150 ccm einer Mischung von Aceton-Methanol (1:1) gelöst, die Lösung mit 25 ccm 10 proz. Natriummethylatlösung

versetzt und 5 Min. auf dem Dampfbad erhitzt. Anschliessend gaben wir die fünffache Menge Wasser zu und säuerten mit konz. Salzsäure an. Aus Benzol erhielten wir einen gelben körnigen Niederschlag.

Schmp. 180 - 181°C (Lit.³¹): 180 - 181°C)

Ausb. 7,59 g (80% d.Th.).

4. 3-Hydroxy-7,4'-dibenzyl-oxy-5,3'-diacetoxy-flavon-3-O-
[2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosiduronsäure-methyl-
ester] (7,4'-Dibenzyl-quercetin-3-O-[β-D-glucuronid-me-
thylester]-pentaacetat)(V):

1,5 g Dibenzyl-quercetin (IV) und 1,5 g α-Acetobrom-glucuronsäure-methylester⁴⁾ wurden in 20 ccm Pyridin gelöst und der Lösung 1,5 g wasserfreies Calciumsulfat (Sikkon) und 1,8 g Silberoxid zugegeben³⁾. Wir schüttelten das Reaktionsgemisch 2 Stdn. unter Lichtabschluß, wobei wir den Reaktionsverlauf chromatographisch verfolgten (DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat 5:4). Anschließend rührten wir das Reaktionsprodukt langsam in 100 ccm 10proz. Kaliumchloridlösung ein und säuerten mit 10proz. Essigsäure bis pH 6 an. Nach 12 Stdn. Stehen filtrierten wir und wuschen die Fällung mehrmals mit Wasser nach. Wir nahmen wieder mit Aceton auf, zentrifugierten, dampften die Lösung ein und reinigten über eine Kieselgelsäule (23 x 7 cm) mit dem Laufmittel Toluol/Äthylacetat (5:4). Die das Kupplungsprodukt enthaltenden Fraktionen wurden eingedampft und in üblicher Weise mit Acetanhydrid/Natriumacetat acetyliert. Rohausb. 1,2 g (44% d.Th.).

Aus Äthanol/Chloroform erhielten wir kleine farblose Nadeln vom Schmp. 202 - 204°C. DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.61$.

$C_{46}H_{42}O_{18}$ (882.8)

ber. C 62.58 H 4.79

gef. C 62.40 H 4.89

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

Zucker: 2-,3-,4- CH_3CO	δ 1.92-2.22 ppm
- OCH_3	3.6 (s)
5-H	3.83-4.15
2-,3-,4-H	4.97-5.45
1-H	5.62-5.85
Aglykon: 5-,3'- CH_3CO	δ 2.3-2.6 ppm
- $O-CH_2-C_6H_5$	4.95-5.48
6-H	6.69 (d, J = 2.5 Hz)
8-H	6.89 (d, J = 2.5 Hz)
5'-H	7.11 (d, J = 9 Hz)
C_6H_5	7.43 (s)
2'-,6'-H	7.99 (m)

5. 3-Hydroxy-5,7,3',4'-tetraacetoxy-flavon-3-O-[2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester] (Quercetin-3-O-[β -D-glucuronid-methylester]-heptaacetat)(VI):

0.58 g Dibenzyl-quercetin-3-O-(β -D-glucuronid-methylester)-pentaacetat (V) wurden nach der üblichen Methode 1 Std. hydriert. Nach der Acetylierung des Reaktionsproduktes mit

Acetanhydrid/Natriumacetat erhielten wir eine Rohausb. von 0,42 g (81% d.Th.).

Durch Umkristallisieren aus Äthanol/Chloroform erhielten wir lange Nadeln vom Schmp. 222 - 224°C.

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.3$

$C_{36}H_{34}O_{20}$ (786.7)

ber. C 54.90 H 4.35

gef. C 54.79 H 4.30

NMR ($CDCl_3$, int.TMS):

Zucker : 2-,3-,4- CH_3CO	δ 1.97-2.19 ppm
- OCH_3	3.62 (s)
5-H	3.84-4.18
2-,3-,4-H	5.0-5.43
1-H	5.74 (d, J = 6 Hz)

Aglykon: 5-,7-,3'-4'- CH_3CO	δ 2.28-2.55 ppm
6-H	6.85 (d, J = 2.5 Hz)
8-H	7.29 (d, J = 2.5 Hz)
5'-H	7.34 (d, J = 9 Hz)
2'-,6'-H	8.0 (m)

6. 3,5,7,3',4'-Pentahydroxy-flavon-3-O-[β -D-glucopyranosiduronsäure] (Quercetin-3-O- β -D-glucuronid) (VII):

Eine Lösung von 0.37 g Quercetin-3-O-(β -D-glucuronid-methylester)-pentaacetat (VI) in 150 ccm Aceton/Wasser (1:1) wurde langsam unter Rühren im Eisbad mit 20 ccm 1 n-Natronlauge versetzt. Die Reaktion wurde chromatographisch verfolgt. Nach 2 Stdn. Rühren neutralisierten wir

mit 14 ccm 1 n-Salzsäure, dampften das Aceton im Vakuum bei 30°C ab, säuerten mit 4 ccm 1 n-Salzsäure bis pH 3 an und schüttelten zehnmal mit je 25 ccm Äthylacetat aus. Die vereinigten Auszüge wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel bei 30°C abgedampft. Aus 70proz. Methanol blaßgelbe Nadeln vom Schmp. 190 - 191°C. Ausb. 0.15 g (67% d.Th.).

$[\alpha]_D^{30}$: -48,2° (c = 0.835 in 50proz. wäßr. Pyridin)

DC-Kieselgel:

Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser (10:2:3): R_f = 0.55

Butanol/Eisessig/Wasser (6:1:2): R_f = 0.21

UV (Methanol p.a.):

$\lambda_{\max}$ (lg ϵ) 257 nm (4.35)

360 (4.23)

$\lambda_{\text{infl.}}$ 309 (3.95)

IR (KBr): Flavonolcarbonyl 1650 cm⁻¹

Säurecarbonyl 1725

C₂₁H₁₈O₁₃ (478.4)

ber. C 52.73 H 3.79

gef. C 52.80 H 3.68

NMR ((CD₃)₂SO, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4-,5-H δ 3.15-3.85 ppm

1-H 5.25-5.68

2-,3-,4-OH 4.75-5.68

-COOH 8.33-11.66

Aglykon: 6-H δ 6.23 ppm(d, J = 2 Hz)

8-H 6.42 (d, J = 2 Hz)

5'-H	6.87 (d, J = 9 Hz)
2'-, 6'-H	7.63 (m)
7-, 3'-, 4'-OH	8.33-11.66
5-OH	12.58 (s)

7. 3-Hydroxy-5,7,3',4'-tetraacetoxy-flavon-3-O-[2,4-di-O-acetyl-β-D-glucopyranosiduronsäure-3,6-lacton] (Quercetin-3-O-[β-D-glucuronid-γ-lacton]-hexaacetat) (VIII):

0.11 g Quercetin-3-O-β-D-glucuronid (VII) wurden mit Acetanhydrid/Natriumacetat nach der üblichen Methode acetyliert. Nach der Aufarbeitung erhielten wir aus Äthanol farblose Nadeln vom Schmp. 158 - 160°C.

Ausb. 0.12 g (74% d.Th.).

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4):R_f = 0.28

IR (KBr): Flavonolcarbonyl 1630 cm⁻¹

Estercarbonyl 1750

Lactoncarbonyl 1810

C₃₃H₂₈O₁₈ (712.6)

ber. C 55.62 H 3.96

gef. C 55.80 H 4.12

NMR (CDCl₃, int. TMS):

Zucker : 2-,4-Acetyl δ 2.0-2.2 ppm

5-H 4.3 (m)

1-,2-,3-,4-H 4.75-5.75

Aglykon: 5-,7-,3'-,4'-CH₃CO δ 2.25-2.5 ppm

6-H 6.85 (d, J = 2.5 Hz)

8-H 7.29 (d, J = 2.5 Hz)

5'-H 7.39 (d, J = 9 Hz)

2'-,6'-H 7.9 (m)

III. Synthese von Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid³²⁾:

a) Darstellung von 7,4'-Dibenzyl-kämpferol:

1. Benzoyloxy-acetonitril³⁴⁾ (XI):

Eine Lösung von 24 g Natriumhydroxidplättchen in 150 ccm Wasser ließen wir so langsam in 34,7 g einer 70proz. Glykolsäurenitrillösung (IX) eintropfen, daß die Temperatur unter Rühren im Eisbad unter 30°C gehalten wurde. Anschließend fügten wir tropfenweise 86 g Benzoylchlorid (X) zu, wobei die Temperatur unter 25°C gehalten werden mußte. Nachdem wir alles Benzoylchlorid zugegeben hatten, wurde noch 15 Min. weitergerührt. Das entstandene Öl wurde von der wässrigen Phase getrennt, gewaschen, getrocknet und durch Destillation bei 165°C im Vakuum gereinigt.

Ausb. 80 g (82% d.Th.).

2. 2,4,6-Trihydroxy- ω -benzoyloxy-acetophenon (ω -Benzoyloxy-phloracetophenon)³⁵⁾ (XIII):

In eine eisgekühlte Lösung von 11,6 g Benzoyloxy-acetonitril (XI), 10 g wasserfreiem Phloroglucin (XII), 20 g frisch geglühtem Zinkchlorid in 100 ccm trockenem Äther wurde 4 Stdn. Chlorwasserstoff eingeleitet und das Reaktionsgemisch anschließend gut verschlossen 12 Stdn. in den Eisschrank gestellt. Der blaßgelbe Rückstand wurde auf einem Filter gesammelt mit Äther gewaschen und anschließend in 1,5 l Wasser etwa 3 Stdn. am Rückfluß gekocht.

Nach dem Abkühlen wurde das entstandene ω -Benzoyloxy-phloracetophenon abfiltriert und aus einer sehr großen Menge Wasser oder aus einer Mischung von Äthylacetat/Petroläther umkristallisiert. Wir erhielten farblose, lichtempfindliche Kristalle vom Schmp. 238 - 241°C.

Ausb. 16,2 g (78% d.Th.).

3. 4-Benzyl-oxy-benzoesäure³⁶⁾(XV):

40 g 4-Hydroxy-benzoesäure (XIV), 300 ccm Dimethylformamid, 180 g geglühtes Kaliumkarbonat und 116 ccm Benzylchlorid wurden in einem Ölbad von 160°C 1 Std. lang unter Rückfluß gerührt. Wir gossen anschließend in 1 l Wasser, filtrierten ab, wuschen mit Wasser mehrmals gut nach und kochten in 600 ccm Methanol, das wir mit 120 ccm 40proz.Natronlauge versetzt hatten, 2 Stdn. unter Rückfluß. Nun gossen wir das Reaktionsgemisch in 4 l Wasser, säuerten mit Salzsäure an, filtrierten ab und kristallisierten aus Eisessig um. Schmp. 189 - 191°C (Lit.³⁶⁾: 188°C)

Ausb. 61 g (93% d.Th.) (Lit.³⁶⁾: 61 g (93% d.Th.))

4. 4-Benzyl-oxy-benzoesäure-anhydrid³⁶⁾(XVI):

20 g 4-Benzyl-oxy-benzoesäure (XV) wurden auf dem Wasserbad mit 40 ccm Thionylchlorid unter Rückfluß bis zur Lösung erhitzt. Wir destillierten das überschüssige Thionylchlorid im Vakuum ab und destillierten noch zweimal mit Benzol nach. Anschließend gaben wir zum

Rückstand 20 g 4-Benzoyloxy-benzoesäure (XV) und 40 ccm Pyridin und erwärmten 15 Min. auf dem Wasserbad. Zur völligen Lösung erhitzen wir ganz kurz mit dem Bunsenbrenner und gossen sofort in ein Gemisch von 1000 g Eis, 1 l Wasser und 200 ccm konz. Salzsäure. Wir filtrierten ab, wuschen mit Wasser nach und kristallisierten aus Aceton um.

Schmp. 117 - 119°C (Lit.³⁶): 119°C)

Ausb. 50 g (70% d.Th.) (Lit.³⁶): 40.4 g (56.5% d.Th.))

5. 4'-Benzoyloxy-3,5,7-triacetoxy-flavon (4'-Benzyl-kämpferol-triacetat) (XVIII):

12,5 g 4-Benzoyloxy-benzoesäure-anhydrid (XVI) und 2 g ω-Benzoyloxy-phloracetophenon (XIII) wurden in 4 ccm frisch destilliertem Triäthylamin 3 Stdn. unter Rückfluß in einem Ölbad von 160°C erhitzt^{37,38}). Das Reaktionsgemisch gossen wir in 200 ccm Methanol, das mit 8 ccm 60proz. Kalilauge versetzt war, erhitzen weitere 30 Min. unter Rückfluß, gaben dann 200 ccm Wasser hinzu und dampften im Vakuum bei 30°C das Methanol ab. Wir gaben dann nochmals 1 l Wasser hinzu, filtrierten und neutralisierten das Filtrat, indem wir 1 Std. Kohlendioxid einleiteten. Nun ließen wir verschlossen über Nacht stehen. Danach wurde das entstandene 4'-Benzyl-kämpferol (XVII) abfiltriert, getrocknet und über eine kurze Kieselgelsäule (15 x 10 cm) mit Toluol/Äthylacetat (5:4) als Eluiermittel

gereinigt. Wir acetylierten mit Acetanhydrid/Pyridin nach der üblichen Methode und erhielten nach der Kristallisation aus Äthanol 4'-Benzyl-kämpferol-triacetat (XVIII). Lange farblose Nadeln vom Schmp. 149 - 150°C. Ausb. 1.33 g (38% d.Th.).

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.6$

$C_{28}H_{22}O_9$ (502,5)

ber. C 66.93 H 4.41 3 $COCH_3$ 25.70

gef. C 67.20 H 4.40 3 $COCH_3$ 25.69

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

3-,5-,7- CH_3CO	δ 2.2-2.55 ppm
-O- $CH_2-C_6H_5$	5.13 (s)
6-H	6.85 (d, $J = 2.3$ Hz)
3'-,5'-H	7.08 (d, $J = 9$ Hz)
8-H	7.32 (d, $J = 2.3$ Hz)
C_6H_5	7.4 (s)
2'-,6'-H	7.82 (d, $J = 9$ Hz)

6. 3,5,7-Trihydroxy-4'-benzyloxy-flavon (4'-Benzyl-kämpferol) (XVII):

2 g 4'-Benzyl-kämpferol-triacetat (XVIII) wurden in 200 ccm Äthanol/Aceton (1:1) mit 50 ccm 3proz. Natronlauge unter Rückfluß erhitzt. Wir versetzten mit 60 ccm heißem Wasser, säuerten mit 5proz. Salzsäure an und ließen auskristallisieren. Durch Umkristallisieren aus Äthanol erhielten wir kleine, gelbe Nadeln vom Schmp. 220 - 222°C.

Ausb. 1.4 g (93% d.Th.).

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.74$

UV (Methanol p.a.):

$\lambda_{\max}$ (lg ϵ) 267 nm (4.29)

364 (4.33)

$\lambda_{\text{infl.}}$ 322 (4.11)

IR (KBr): Flavonolcarbonyl 1650 cm^{-1}

Hydroxyl 3400

$\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{O}_6$ (376.4)

ber. C 70.21 H 4.29

gef. C 70.00 H 4.21

NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, int. TMS):

$-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$ δ 5.22 ppm (s)

6-H 6.28 (d, $J = 2$ Hz)

8-H 6.51 (d, $J = 2$ Hz)

3'-, 5'-H 7.2 (d, $J = 9, 5$ Hz)

C_6H_5 7.49 (s)

2'-, 6'-H 8.18 (d, $J = 9.5$ Hz)

7. 7,4'-Dibenzyl-3,5-diacetoxy-flavon(7,4'-Dibenzyl-kämpferol-diacetat)(XIX):

2 g 4'-Benzylkämpferol-triacetat (XVIII) wurden mit 0.9 g Benzylchlorid, 0.44 g Kaliumjodid und 4 g Kaliumcarbonat in 50 ccm Aceton nach der üblichen Methode 35 Stdn. benzyliert. Nach der Aufarbeitung erhielten wir aus Äthanol/Chloroform Nadeln vom Schmp. 171 - 173°C.

Ausb. 1.4 g (64% d.Th.).

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.65$

$C_{33}H_{26}O_8$ (550.5)

ber. C 71.99 H 4.76

gef. C 71.85 H 4.65

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

3-,5- CH_3CO	δ 2.22-2.5 ppm
-O- $CH_2-C_6H_5$	5.15 (s)
6-H	6.72 (d, J = 2.5 Hz)
8-H	6.91 (d, J = 2.5 Hz)
3'-,5'-H	7.08 (d, J = 9 Hz)
2 C_6H_5	7.42 (s)
2'-,6'-H	7.8 (d, J = 9 Hz)

8. 3,5-Dihydroxy-7,4'-dibenzyl-oxy-flavon (7,4'-Dibenzyl-kämpferol) (XX):

2 g 7,4'-Dibenzyl-kämpferol-diacetat (XIX) wurden wie 4'-Benzyl-kämpferol-triacetat (XVIII) verseift. Nach dem Umkristallisieren aus Äthanol erhielten wir kleine, gelbe, quadratische Kristalle vom Schmp. 157 - 159°C. Ausb. 1.7 g (92% d.Th.).

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.86$

UV (Methanol p.a.):

λ_{max} (lg ϵ)	217 nm	(4.34)
	354	(4.34)
$\lambda_{infl.}$	322	(4.13)

IR (KBr): Flavonolcarbonyl 1640 cm^{-1}

Hydroxyl 3300

$C_{29}H_{22}O_6$ (466.5)

ber. C 74.67 H 4.75

gef. C 74.52 H 4.56

NMR ($(CD_3)_2SO$, int. TMS):

$-O-CH_2-C_6H_5$	δ 5.22 ppm (s)
6-H	6.45 (d, J = 2.3 Hz)
8-H	6.84 (d, J = 2.3 Hz)
3'-, 5'-H	7.2 (d, J = 9 Hz)
C_6H_5	7.47 (s)
2'-, 6'-H	8.19 (d, J = 9 Hz)
3-OH	9.61 (s)
5-OH	12.5 (s)

b) Darstellung von Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid:

1. 3-Hydroxy-7,4'-dibenzyl-oxy-5-acetoxy-flavon-3-O-[2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester] (7,4'-Dibenzyl-kämpferol-3-O-[β -D-glucuronid-methylester]-tetraacetat)(XXI):

1,5 g 7,4'-Dibenzylkämpferol (XX) und 1,6 g α -Acetobromglucuronsäure-methylester⁴⁾ wurden mit 1,5 g wasserfreiem Calciumsulfat und 1,8 g Silberoxid in 30 ccm Pyridin 2 Stdn. unter Lichtabschluß geschüttelt³⁾. Anschließend rührten wir das Reaktionsgemisch langsam in 100 ccm 10proz. Kaliumchloridlösung ein, säuerten mit 10proz. Essigsäure an, filtrierten und wuschen die Fällung mehrmals mit Wasser nach. Wir nahmen wieder mit

Aceton auf, zentrifugierten, dampften die Lösung ein und reinigten über eine Kieselgelsäule (23 x 7 cm) mit Toluol/Äthylacetat (5:4). Die das Kupplungsprodukt enthaltenden Fraktionen wurden eingedampft und in üblicher Weise mit Acetanhydrid/Natriumacetat acetyliert. Rohausb. 1.2 g (45% d.Th.).

Aus Äthanol/Chloroform erhielten wir kleine farblose Nadeln vom Schmp. 197 - 199°C.

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.63$

$C_{44}H_{40}O_{16}$ (824.8)

ber. C 64.07 H 4.89

gef. C 64.35 H 4.98

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

Zucker : 3- CH_3CO	δ 1.97-2.2 ppm
- OCH_3	3.59 (s)
5-H	3.82-4.1
2-, 3-, 4-H	4.97-5.4
1-H	5.55-5.85

Aglykon: 5- CH_3CO	δ 2.45 ppm
- $O-CH_2-C_6H_5$	5.19 (s)
6-H	6.7 (d, J = 2.5 Hz)
8-H	6.9 (d, J = 2.5 Hz)
3'-, 5'-H	7.1 (d, J = 9 Hz)
C_6H_5	7.43 (s)
2'-, 6'-H	8.04 (d, J = 9 Hz)

2. 3-Hydroxy-5,7,4'-triacetoxy-flavon-3-O-[2,3,4-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosiduronsäure-methylester] (Kämpferol-3-O-[β-D-glucuronid-methylester]-hexaacetat) (XXII):

0.25 g 7,4'-Dibenzyl-kämpferol-3-O-(β-D-glucuronsäure-methylester)-tetraacetat (XXI) wurde in Methanol mit Palladium/Kohle unter Wasserstoff-Atmosphäre bei gelindem Erwärmen 5 Stdn. hydriert.

Wir dampften das Filtrat bei 30°C zur Trockne ein und acetylierten mit Acetanhydrid/Natriumacetat. Aus Äthanol/Chloroform erhielten wir lange, farblose Nadeln vom Schmp. 201 - 203°C.

Ausb. 0.17 g (77% d.Th.).

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.3$

$C_{34}H_{32}O_{18}$ (728.6)

ber. C 56.05 H 4.42

gef. C 55.95 H 4.48

NMR (CDCl₃, int. TMS):

Zucker : 3-CH ₃ CO	δ 1.93-2.2 ppm
-OCH ₃	3.6 (s)
5-H	3.79-4.18
1-,2-,3-,4-H	5.1-5.78
Aglykon: 5-,7-,4'-CH ₃ CO	δ 2.27-2.55 ppm
6-H	6.85 (d, J = 2.5 Hz)
3'-,5'-H	7.25 (d, J = 9 Hz)
8-H	7.3 (d, J = 2.5 Hz)
2'-,6'-H	8.1 (d, J = 9 Hz)

3. 3,5,7,4'-Tetrahydroxy-flavon-3-O- β -D-glucopyranosiduronsäure] (Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid) (XXIII):

0.28 g Kämpferol-3-O-(β -D-glucuronid-methylester)-hexaacetat (XXII) wurden in 100 ccm Aceton/Wasser (1:1) gelöst und langsam unter Rühren im Eisbad mit 20 ccm n-Natronlauge versetzt. Die Reaktion wurde chromatographisch verfolgt. Nach 2 Stdn. Rühren neutralisierten wir mit 15 ccm 1n-Salzsäure, dampften das Aceton im Vakuum bei 30°C ab, säuerten mit 3 ccm 1n-Salzsäure bis pH 3 an und schüttelten zehnmal mit 25 ccm Äthylacetat aus. Die vereinigten Äthylacetatphasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum bei 30°C abgedampft. Wir nahmen den Rückstand mit wenig Äthanol auf, erwärmten und gaben solange Benzol zu, bis Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid langsam auszufallen begann. Wir erhielten einen mikrokristallinen hellgelben Niederschlag vom Schmp. 180 - 182°C.

Ausb. 0.12 g (68% d.Th.).

$[\alpha]_D^{30}$: -52.4° (c = 0.995 in Pyridin/Wasser 1:1)

DC-Kieselgel, Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser (10:2:3):

$$R_f = 0.64$$

Butanol/Eisessig/Wasser (6:1:2): $R_f = 0.34$

UV (Methanol p.a.):

$\lambda_{\max}$ (lg ϵ) 266 nm (4.31)

352 (4.22)

IR (KBr): Flavonolcarbonyl 1645 cm⁻¹

Säurecarbonyl 1725

$C_{21}H_{18}O_{12}$ (462.4)

ber. C 54.55 H 3.92

gef. C 54.75 H 4.34

NMR ($(CD_3)_2SO$, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4-,5-H	δ 3.15-3.85 ppm
1-H, OH	5.15-5.8
COOH	8.3-11.6 (br)
Aglykon: 6-H	δ 6.24 ppm (d, J = 2 Hz)
8-H	6.46 (d, J = 2 Hz)
3'-,5'-H	6.9 (d, J = 9 Hz)
2'-,6'-H	8.07 (d, J = 9 Hz)
5-OH	12.6 (s)
7-,4'-OH	8.3-11.6 (br)

4. 3-Hydroxy-5,7,4'-triacetoxy-flavon-3-O-[2,4-di-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-3,6-lacton] (Kämpferol-3-O-[β -D-glucuronid- γ -lacton]-pentaacetat)(XXIV):

0.11 g Kämpferol-3-O- β -D-glucuronid (XXIII) acetylierten wir mit Acetanhydrid/Natriumacetat nach der üblichen Methode. Nach der Aufarbeitung erhielten wir aus Äthanol farblose Nadeln vom Schmp. 208 - 210°C.

Ausb. 0.09 g (56% d.Th.).

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): R_f = 0.38

IR (KBr): Flavonolcarbonyl	1630 cm^{-1}
Estercarbonyl	1730
Lactoncarbonyl	1810

$C_{31}H_{26}O_{16}$ (654.5)

ber. C 56.88 H 4.00

gef. C 56.78 H 4.30

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

Zucker : 2- CH_3CO	δ 1.95-2.21 ppm
5-H	4.17-4.38
1-, 2-, 3-, 4-H	4.72-5.96
Aglykon: 5-, 7-, 4'- CH_3CO	δ 2.25-2.55 ppm
6-H	6.85 (d, J = 2.5 Hz)
3'-, 5'-H	7.3 (d, J = 9 Hz)
8-H	7.35 (d, J = 2.5 Hz)
2'-, 6'-H	8.0 (d, J = 9 Hz)

IV. Synthese von Apigenin-7-O- β -D-glucuronid³⁹⁾:

a) Darstellung von 4'-Benzyl-apigenin:

α) Syntheseweg nach der ALLAN-ROBINSON-Methode:

1. 2,4,6-Trihydroxy-acetophenon(Phloracetophenon)(XXVI)⁴³⁾:

226 g bei 120°C getrocknetes Phloroglucin (XII) wurden in 900 ccm wasserfreiem Äther mit 46 g durch Schmelzen entwässertem Zinkchlorid und 192 ccm Acetonitril (XXV) versetzt. Unter ständigem Kühlen und Rühren in einer Kältemischung wurde 3 Stdn. lang trockenes Salzsäuregas eingeleitet. Mit einem Calciumchloridrohr verschlossen, blieb das Ganze für 24 Stdn. bei 0°C stehen. Hierauf leiteten wir abermals 3 Stdn. lang Salzsäuregas ein und verwahrten das Gemisch nochmals 3 Tage in einem Kühlraum. Das abgeschiedene, gelborange gefärbte Iminhydrochlorid wurde vom Äther abgetrennt und zweimal mit je 100 ccm frischem Äther gewaschen. Seine Zersetzung zum Keton erfolgte durch zweistündiges Kochen mit 13 l Wasser. Nach Zusatz von Aktivkohle und Filtration erhielt man hellgelbe Kristalle vom Schmp. 216 - 218°C. (Lit.⁴³⁾: 218 - 219°C).
Ausb. 272 g (90% d.Th.).

2. 5,7-Dihydroxy-4'-benzyloxy-3-[4-benzyloxy-benzoyl]-flavon (4'-Benzyl-3-[4-benzyloxy-benzoyl]-apigenin)(XXVII):

19 g 4-Benzyloxy-benzoesäure-anhydrid (XVI) und 2 g

2,4,6-Trihydroxy-acetophenon (XXVI) wurden in 5 ccm frisch destilliertem Triäthylamin 3 Std. unter Rückfluß in einem Ölbad von 120 - 130°C erhitzt^{37,38}). Das Reaktionsgemisch gossen wir in 200 ccm Methanol, das mit 12 ccm 60proz. Kalilauge versetzt war, erhitzen weitere 30 Min. unter Rückfluß, gaben dann 200 ccm Wasser hinzu und dampften im Vakuum bei 30°C das Methanol ab, Wir gaben dann nochmals 1 l Wasser hinzu, filtrierten und neutralisierten das Filtrat, indem wir 1 Std. Kohlendioxid einleiteten. Nun ließen wir verschlossen über Nacht stehen. Dann wurde die Ausfällung abfiltriert, getrocknet und an einer Kieselgelsäule (23 x 7 cm) mit Toluol/Äthylacetat (5:4) als Eluiermittel in 2 Flavone aufgetrennt. Das Hauptflavon kristallisierten wir aus Chloroform/Äthanol um. Schmp. 250°C.

DC-Kieselgel, Benzol/Äthanol (9:1): $R_f = 0.59$

$C_{36}H_{26}O_7$ (570.6)

IR (KBr): Flavoncarbonyl + Benzoylcarbonyl 1640 cm^{-1}

5-OH 2400 - 3300

7-OH 3400

NMR ($(CD_3)_2SO$, int. TMS):

$-CH_2-C_6H_5$ δ 5.15; 5.20 ppm (s)

6-H 6.29 (d, J = 2 Hz)

8-H 6.55 (d, J = 2 Hz)

3'-,5'-H und	
3"-,5"-H	7.1 (d, J = 9 Hz)
C ₆ H ₅	7.40 (m)
2"-,6"-H	7.60 (d, J = 9 Hz)
2'-,6'-H	7.94 (d, J = 9 Hz)
7-OH	11.1 (s)
5-OH	12.6 (s)

Massenspektrum:

Vor der Messung im Massenspektrographen wurde 4'-Benzyl-3-(4'-benzyloxy-benzoyl)-apigenin nach der Methode von HAKOMORI⁶⁰⁾ permethyliert.

Meßbedingungen:

Direkteinlaß

Ionenquellentemperatur: 300°C

Verdampfungstemperatur: 260°C

Auflösung: 1000

Beschleunigungsspannung: 4 KV

Elektronenenergie: 70 eV

Emission: 300 µA

Ionenquellendruck: 5×10^{-7} Torr

Schreibergeschwindigkeit: 100 sec/Dekade

Tabelle 4

Fragment- Ionen m/e	Summenformel der Fragmente	Strukturformel der Fragmente
570 = M ⁺	C ₃₆ H ₂₆ O ₇	
480	C ₂₉ H ₂₀ O ₇	
390	C ₂₂ H ₁₄ O ₇	
360	C ₂₂ H ₁₆ O ₅	
296	C ₁₆ H ₉ O ₆	

Fragment- Jonen m/e	Summenformel der Fragmente	Strukturformel der Fragmente
270	$C_{15} H_{10} O_5$	
211	$C_{14} H_{11} O_2$	
153	$C_7 H_4 O_4$	
121	$C_7 H_5 O_2$	
91	$C_7 H_7$	
65	$C_5 H_5$	

Das Synthesenebenflavon war 5,7-Dihydroxy-4'-benzyl-oxyflavon (4'-Benzyl-apigenin) (XXVIII).

ß) Syntheseweg nach TEOULE, CHOPIN und MENTZER⁴⁴⁾:

1. 4-Benzyloxy-acetophenon (XXX):

50 g 4-Hydroxy-acetophenon (XXIX), 50 g Benzylchlorid, 100 g frisch geglühtes Kaliumcarbonat und 400 ccm Dimethylformamid wurden 2 Stdn. im Ölbad bei 160°C am Rückfluß erhitzt. Der Reaktionsverlauf wurde chromatographisch (DC-Kieselgel, Benzol/Pyridin/Ameisensäure 72:18:10) verfolgt. Aus Methanol (Kohle) erhielten wir eine Substanz vom Schmp. 90 - 92°C.

Ausb. 67 g (80% d.Th.).

$C_{15}H_{14}O_2$ (226.3)

2. 4-Benzyloxy-benzoyl-äthylacetat (XXXII):

In 300 ccm Diäthylcarbonat (XXXI) lösten wir 4,6 g Natrium im Ölbad bei 160°C. Im Zeitraum von 1 Std. wurden langsam 45 g 4-Benzyloxy-acetophenon (XXX) hinzugefügt. Nun wurde 30 Min. erhitzt bei 140°C. Anschließend destillierten wir den größten Teil des Diäthylcarbonates bei 170°C ab. Wir ließen abkühlen und gaben Eis und 15 ccm Eisessig zu. Mit 300 ccm Äther schüttelten wir das Reaktionsprodukt aus. Wir wuschen die Ätherphase dreimal mit je 100 ccm Wasser, trockneten mit Natriumsulfat und brachten die Lösung am Rotationsverdampfer im Vakuum zur Trockne.

Zur besonderen Reinigung der entstandenen Substanz nahmen wir den Rückstand in 300 ccm Äthanol auf und gaben 300 ccm gesättigte Kupferacetatlösung zu. Den dabei entstandenen Niederschlag des Kupferderivates ließen wir über Nacht stehen. Dann saugten wir ab und wuschen mit Alkohol. Wir nahmen nun mit 5proz. wässriger Salzsäure auf und schüttelten mit Äther aus. Die Ätherausschüttelungen wurden gesammelt, mit Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer zur Trockne gebracht.

Schmp. 54 - 56°C

Ausb. 25 g (43% d.Th.).

$C_{18}H_{18}O_4$ (298.3)

3. 5,7-Dihydroxy-4'-benzyloxy-flavon (4'-Benzyl-apigenin)
(XXVIII):

5 g frisch getrocknetes Phloroglucin (XII) und 4 g 4-Benzyloxy-benzoyl-äthylacetat (XXXII) wurden 4 Stdn. im Vakuum bei 170°C im Ölbad erhitzt. Wir gossen das Reaktionsgemisch in 20 ccm Äthanol und ließen über Nacht stehen. Dann brachten wir das Ganze in 300 ccm Äthanol, erwärmten am Rückfluß, ließen abkühlen, filtrierten ab und wuschen mit Äther nach.

Schmp. 302 - 305°C

Ausb. 2.15 g (45% d.Th.).

4. 4'-Benzyloxy-5,7-diacetoxy-flavon (4'-Benzyl-apigenin-diacetat) (XXXIII):

6 g 4'-Benzyl-apigenin (XXVIII) wurden mit Acetanhydrid/Natriumacetat nach der üblichen Methode acetyliert. Nach der Aufarbeitung erhielten wir aus Äthanol/Chloroform (Kohle) farblose Nadeln vom Schmp. 172 - 174°C.

Ausb. 6.8 g (92% d.Th.).

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.61$

$C_{26}H_{20}O_7$ (444.5)

ber. C 70.26 H 4.53

gef. C 70.50 H 4.41

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

7- CH_3CO	δ 2.31 ppm (s)
5- CH_3CO	2.43 (s)
-O- $CH_2-C_6H_5$	5.12 (s)
3-H	6.55 (s)
6-H	6.85 (d, J = 2 Hz)
3'-, 5'-H	7.07 (d, J = 9 Hz)
8-H	7.33 (d, J = 2 Hz)
C_6H_5	7.42 (s)
2'-, 6'-H	7.81 (d, J = 9 Hz)

5. 5,7-Dihydroxy-4'-benzyloxy-flavon (4'-Benzyl-apigenin) (XXVIII):

5 g 4'-Benzyl-apigenin-diacetat (XXXIII) lösten wir in 1 l Äthanol, gaben 25 ccm 2n-Natriummethylatlösung zu und kochten 2 Stdn. am Rückfluß. Die Reaktion wurde

chromatographisch (DC-Kieselgel, Benzol/Pyridin/Ameisensäure 72:18:10) verfolgt. Nun machten wir mit 25proz. Salzsäure bis pH 4 sauer und ließen über Nacht auskristallisieren. Nach dem Abfiltrieren wuschen wir mit Wasser neutral und trockneten über Phosphorpentoxid im Vakuumexsikkator.

Schmp. 307 - 309°C

Ausb. 3.8 g (95% d.Th.).

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.62$

IR (KBr): Flavoncarbonyl 1640 cm^{-1}
5,7-Hydroxy 2200 - 3300

$\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{O}_5$ (360.4)
ber. C 73.32 H 4.47
gef. C 73.10 H 4.39

NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, int. TMS):

O-CH ₂ -C ₆ H ₅	δ 5.20 ppm (s)
6-H	6.23 (d, J = 2 Hz)
8-H	6.51 (d, J = 2 Hz)
3-H	6.80 (s)
3'-,5'-H	7.18 (d, J = 9 Hz)
C ₆ H ₅	7.42 (m)
2'-,6'-H	8.00 (d, J = 9 Hz)
7-OH	10.9 (s)
5-OH	13.1 (s)

b) Darstellung von Apigenin-7-O- β -D-glucuronid:

1. 7-Hydroxy-4'-benzyloxy-5-acetoxy-flavon-7-O-[2,3,4-tri-
O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure -methylester](4'-
Benzyl-apigenin-7-O-[β -D-glucuronid-methylester]-tetra-
acetat) (XXXIV):

1 g 4'-Benzyl-apigenin (XXVIII) und 1,4 g α -Acetobromglucuronsäure-methylester⁴⁾ wurden mit 1,5 g wasserfreiem Calciumsulfat und 1,5 g Silbercarbonat in 25 ccm Chinolin unter Lichtabschluß geschüttelt³⁾. Der Ablauf der Reaktion wurde chromatographisch (DC-Kieselgel, Benzol/Pyridin/Ameisensäure 72:18:10) verfolgt. Nach 3 Stdn. rührten wir das Reaktionsgemisch langsam in 150 ccm 10proz. Kaliumchloridlösung ein, säuerten tropfenweise mit Eisessig an, ließen über Nacht stehen und wuschen nach Abfiltrieren mehrmals mit Wasser nach. Den trockenen Rückstand nahmen wir mit Aceton auf, zentrifugierten, dampften die Lösung ein und reinigten über eine Kieselgelsäule (23 x 7 cm) mit Benzol/Äthanol (9:1). Die das Kupplungsprodukt enthaltenden Fraktionen wurden eingedampft und in üblicher Weise mit Acetanhydrid/Natriumacetat acetyliert. Rohausb. 0.86 g (43% d.Th.).

Aus Äthanol/Chloroform farbloser, gallertiger Niederschlag.

Nach Trocknung bei 100°C im Vakuum Schmp. 207 - 209°C.

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.43$

$C_{37}H_{34}O_{15}$ (718.7)

ber. C 61.84 H 4.77

gef. C 62.40 H 4.80

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4- CH_3CO	δ 2.08 ppm (s)
- OCH_3	3.71 (s)
5-H	4.11-4.48
1-,2-,3-,4-H	5.1-5.6
Aglykon: 5- CH_3CO	δ 2.43 ppm (s)
- $O-CH_2-C_6H_5$	5.13 (s)
3-H	6.48 (s)
6-H	6.64 (d, J = 2 Hz)
8-H	6.98 (d, J = 2 Hz)
3'-,5'-H	7.05 (d, J = 9 Hz)
C_6H_5	7.38 (s)
2'-,6'-H	7.78 (d, J = 9 Hz)

2. 7-Hydroxy-5,4'-diacetoxy-flavon-7-0-[2,3,4-tri-0-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester] (Apigenin-7-0-[β -D-glucuronid-methylester]-pentaacetat) (XXXV):

0.8 g 4'-Benzyl-apigenin-7-0-(β -D-glucuronid-methylester)-tetraacetat (XXXIV) wurden nach der üblichen Methode hydriert. Nach der Aufarbeitung acetylierten wir mit Acetanhydrid/Natriumacetat. Aus Äthanol/Chloroform lange, dünne, farblose Nadeln in Büscheln vom Schmp. 235 - 237°C.

Ausb. 0.56 g (76% d.Th.).

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): $R_f = 0.27$

$C_{32}H_{30}O_{16}$ (670.6)

ber. C 57.31 H 4.51

gef. C 57.40 H 4.53

NMR ($(CD_3)_2SO$, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4- CH_3CO	δ 2.05 ppm (s)
- OCH_3	3.67 (s)
5-H	4.79 (d, $J = 9.5$ Hz)
2-,3-,4-H	4.9-5.7 (m)
1-H	5.97 (d, $J = 7$ Hz)
Aglykon: 5-,4'- CH_3CO	δ 2.33 ppm (s)
3-H	6.88 (s)
6-H	6.89 (d, $J = 2$ Hz)
8-H	7.39 (d, $J = 2$ Hz)
3'-,5'-H	7.37 (d, $J = 9$ Hz)
2'-,6'-H	8.11 (d, $J = 9$ Hz)

3. 5,7,4'-Trihydroxy-flavon-7-O-[β -D-glucopyranosiduron-säure](Apigenin-7-O- β -D-glucuronid)(XXXVI):

0.43 g Apigenin-7-O-(β -D-glucuronid-methylester)-pentaacetat (XXXV) wurden in einer Mischung von 250 ccm Aceton und 50 ccm Wasser langsam unter Rühren im Eisbad mit 20 ccm 1n-Natronlauge versetzt. Wir verfolgten den Ablauf der Reaktion chromatographisch (DC-Kieselgel, Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser 10:2:3).

Nach 1 Std. Rühren gaben wir noch 50 ccm Wasser zu, neutralisierten mit 1n-Salzsäure, dampften das Aceton im

Vakuum bei 30°C ab, säuerten mit 1n-Salzsäure bis pH 3 an und schüttelten zehnmal mit je 25 ccm Äthylacetat aus. Die vereinigten Auszüge wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum bei 30°C abgedampft. Aus Wasser gelbe Kristalle vom Zersp. 175 - 177°C.

Ausb. 0.195 g (69% d.Th.)

$[\alpha]_D^{26}$: -114.7° (c = 0.976 in Pyridin/Wasser 1:1)

DC-Kieselgel:

Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser (10:2:3): R_f = 0.8

Butanol/Eisessig/Wasser (6:1:2): R_f = 0.53

UV (Methanol p.a.):

$\lambda_{\max}$ (lg ϵ) 268 nm (4.29)

333 (4.30)

IR (KBr): Flavoncarbonyl 1645 cm⁻¹

Säurecarbonyl 1720

C₂₁H₁₈O₁₁ (446.4)

ber. C 56.51 H 4.07

gef. C 56.55 H 4.26

NMR ((CD₃)₂SO, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4-H δ 3.3-3.7 ppm (m)

5-H 4.0-4.3 (br)

1-H 5.34 (br)

Aglykon: 6-H δ 6.51 ppm (d, J = 2 Hz)

3-H 6.80 (s)

8-H 6.85 (d, J = 2 Hz)

3'-,5'-H 6.98 (d, J = 9 Hz)

2'-,6'-H	7.95 (d, J = 9 Hz)
5-OH	13.1 (s)
4'-OH	8.2-11 (br)

4. 7-Hydroxy-5,4'-diacetoxy-flavon-7-O-[2,4-di-O-acetyl-
β-D-glucopyranosiduronsäure-3,6-lacton](Apigenin-7-
O-[β-D-glucuronid-γ-lacton]-tetraacetat)(XXXVIII):

0.13 g Apigenin-7-O-β-D-glucuronid (XXXVI) wurden mit Acetanhydrid/Natriumacetat nach der üblichen Methode acetyliert. Nach der Aufarbeitung erhielten wir aus Äthanol lange, farblose Nadeln vom Schmp. 212 - 214⁰C.
Ausb. 0.13 g (76% d.Th.)

$[\alpha]_D^{28}$: -84.6⁰ (c = 0.455 in Chloroform)

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): R_f = 0.25

IR (KBr): Flavoncarbonyl 1630 cm⁻¹

Estercarbonyl 1740

Lactoncarbonyl 1800

C₂₉H₂₄O₁₄ (596.5)

ber. C 58.39 H 4.05

gef. C 58.79 H 4.35

NMR (CDCl₃, int. TMS):

Zucker : 2-,4-CH ₃ CO	δ 2.15; 2.21 ppm (s)
5-H	4.37 (d, J = 4 Hz)
4-H	5.0 (t, J = 4 Hz)
3-H	5.21 (t, J = 4 Hz)
2-H	5.42 (d, J = 4 Hz)
1-H	5.79 (s)

Aglykon: 4'-CH₃CO δ 2.33 ppm (s)

5-CH ₃ CO	2.41 (s)
3-H	6.60 (s)
6-H	6.77 (d, J = 2 Hz)
8-H	7.01 (d, J = 2 Hz)
3'-, 5'-H	7.23 (d, J = 9 Hz)
2'-, 6'-H	7.90 (d, J = 9 Hz)

5. 7-Hydroxy-5,4'-diacetoxy-flavon-7-0-[2,3,4-tri-0-acetyl-
β-D-glucopyranosiduronsäure] (Apigenin-7-0-[β-D-glucuronid])-
pentaacetat) (XXXVII):

0.12 g Apigenin-7-0-β-D-glucuronid (XXXVI) wurden in 4 ccm Acetanhydrid mit 0.15 g geglühtem Zinkchlorid in Lösung gebracht. Nach 24 stdg. Stehen rührten wir das Acetat langsam in 40 ccm Eiswasser ein. Nach dem Absaugen und Waschen mit Wasser erhielten wir aus Äthanol farblose, lange Nadeln vom Schmp. 170 - 172°C.

Ausb. 0.13 g (75% d.Th.).

$[\alpha]_D^{27}$: -39.2° (c = 0.741 in Chloroform)

DC-Kieselgel, Toluol/Äthylacetat (5:4): R_f = 0.41

IR (KBr): Flavoncarbonyl 1630 cm⁻¹

Säurecarbonyl + Estercarbonyl 1740

Säurehydroxyl 2600 - 3600

C₃₁H₂₈O₁₆ (656.6)

ber. C 56.71 H 4.29

gef. C 56.60 H 4.47

NMR ((CD₃)₂SO + CDCl₃ (1:1), int. TMS):

Zucker : 2-, 3-, 4-CH₃CO δ 2.05 ppm (s)

5-H 4.70 (d, J = 9 Hz)

2-,3-,4-H	5.0-5.61 (m)
1-H	5.96 (d, J = 7 Hz)
Aglykon: 5-,4'-CH ₃ CO	δ 2.35 ppm (s)
3-H	6.90 (s)
6-H	6.94 (d, J = 2.5 Hz)
8-H	7.36 (d, J = 2.5 Hz)
3'-,5'-H	7.36 (d, J = 9 Hz)
2'-,6'-H	8.10 (d, J = 9 Hz)

V. Synthese von Chrysin-7-O- β -D-glucuronid⁴⁵⁾

1. 7-Hydroxy-5-acetoxy-flavon-7-O-[2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester] (Chrysin-7-O-[β -D-glucuronid-methylester]-tetraacetat)(XL):

1 g Chrysin (XXXIX) und 2 g α -Acetobromglucuronsäure-methylester⁴⁾ wurden mit 2 g Calciumsulfat und 1,5 g Silbercarbonat in 20 ccm Chinolin 3 Stdn. unter Lichtabschluß geschüttelt³⁾. Den Ablauf der Reaktion verfolgten wir mit DC auf Kieselgel (Benzol/Pyridin/Ameisensäure 72:18:10). Wir rührten anschließend das Reaktionsprodukt langsam in 150 ccm 10proz. Kaliumchloridlösung ein, säuerten mit 10proz. Essigsäure bis pH 5 an und ließen über Nacht stehen. Dann filtrierten wir ab, wuschen mehrmals mit Wasser nach, nahmen den Rückstand mit Aceton auf, zentrifugierten mehrmals und dampften die Lösung ein. Zur Reinigung chromatographierten wir an einer Kieselgelsäule (23 x 7 cm) mit dem Laufmittel Benzol/Äthanol (9:1). Die Fraktionen mit dem gewünschten Kupplungsprodukt wurden vereinigt, eingedampft und in der üblichen Weise mit Acetanhydrid/Natriumacetat acetyliert.

Rohausb. 0.9 g (37% d.Th.).

Aus Äthanol/Chloroform erhielten wir lange, dünne, biegsame Nadeln vom Schmp. 248 - 250°C.

DC-Kieselgel, Benzol/Äthanol (9:1): $R_f = 0.5$

IR (KBr): Flavoncarbonyl 1640 cm⁻¹

Estercarbonyl 1750

$C_{50}H_{28}O_{14}$ (612.6)

ber. C 58.82 H 4.61

gef. C 58.60 H 4.59

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4- CH_3CO	δ 2.05 ppm (s)
OCH_3	3.75 (s)
5-H	4.20-4.52 (m)
1-,2-,3-,4-H	5.20-5.60 (m)
Aglykon: 5- CH_3CO	δ 2.43 ppm (s)
3-H	6.61 (s)
6-H	6.70 (d, J = 2.5 Hz)
8-H	7.03 (d, J = 2.5 Hz)
3'-,4'-,5'-H	7.38-7.68 (m)
2'-,6'-H	7.74-8.0 (m)

2. 5,7-Dihydroxy-flavon-7-O- β -D-glucopyranosiduronsäure
(Chrysin-7-O- β -D-glucuronid)(XLI):

Eine Lösung von 1 g Chrysin-7-O-(β -D-glucuronid-methylester)-tetraacetat (XL) in einer Mischung von 200 ccm Aceton und 125 ccm Wasser wurde unter Rühren im Eisbad tropfenweise mit 30 ccm n-Natronlauge versetzt. Der Reaktionsablauf wurde mit DC auf Kieselgel (Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser 10:2:3) verfolgt. Nach 1 stdg. Rühren neutralisierten wir mit 18 ccm n-Salzsäure, dampften im Rotationsverdampfer das Aceton ab und erhielten bei Zugabe von 7 ccm n-Salzsäure einen blaßgelben Niederschlag.

Wir filtrierten ab, wuschen mit Wasser neutral und kristallisierten aus 200 ccm 70proz. Methanol um. Lange, dünne, gebogene, blaßgelbe Nadeln vom Zersp. 224 - 226°C.

Ausb. 0.530 g (76% d.Th.).

$[\alpha]_D^{24}$: -107.0° (c = 1.12 in 50proz. wäßr. Pyridin)

DC-Kieselgel, Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser (10:2:3):

$R_f = 0.75$

UV (Methanol p.a.):

$\lambda_{\min}$ (lg ϵ)	233 nm	(4.017)
$\lambda_{\max}$	268	(4.507)
$\lambda_{\text{infl.}}$	300	(4.158)

IR (KBr): Flavoncarbonyl 1650 cm^{-1}

Estercarbonyl 1720

Säurehydroxyl 2200 - 3600

$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ (430.4)

ber. C 58.61 H 4.31

gef. C 58.71 H 4.27

NMR ((CD_3)₂SO, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4-H	δ 3.2-3.8 ppm (m)
5-H	4.0-4.35 (br)
1-H	5.25-5.50 (br)
2-,3-,4-OH	3.3-6.0 (br)
Aglykon: 6-H	δ 6.59 ppm (d, J = 2 Hz)
8-H	6.99 (d, J = 2 Hz)
3-H	7.10 (s)
3'-,4'-,5'-H	7.56-7.85 (m)
2'-,6'-H	7.96-8.30 (m)
5-OH	12.9 (s)

3. 7-Hydroxy-5-acetoxy-flavon-7-0-[2,4-di-0-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-3,6-lacton] (Chrysin-7-0-[β -D-glucuronid- γ -lacton]-triacetat) (XLIII):

0.15 g Chrysin-7-0- β -D-glucuronid (XLI) acetylierten wir mit 5 ccm Acetanhydrid und 0.15 g Natriumacetat nach der üblichen Methode. Nach der Aufarbeitung erhielten wir aus Äthanol blaßgelbe Nadeln vom Zersp. 146 - 148°C.

Ausb. 0.140 g (75% d.Th.).

IR (KBr): Flavoncarbonyl 1650 cm^{-1}

Estercarbonyl 1740

Lactoncarbonyl 1805

NMR (CDCl_3 , int. TMS):

Zucker : 2-,4- CH_3CO	δ 2.17; 2.25 ppm (s)
5-H	4.42 (d, J = 3.5 Hz)
4-H	5.04 (t, J = 3.5 Hz)
3-H	5.26 (t, J = 4 Hz)
2-H	5.45 (d, J = 4 Hz)
1-H	5.80 (s)

Aglykon: 5- CH_3CO	δ 2.45 ppm (s)
3-H	6.69 (s)
6-H	6.80 (d, J = 2 Hz)
8-H	7.18 (d, J = 2 Hz)
3'-,4'-,5'-H	7.40-7.45 (m)
2'-,6'-H	7.75-8.12 (m)

4. 7-Hydroxy-5-acetoxy-flavon-7-0-[2,3,4-tri-0-acetyl-β-D-glucopyranosiduronsäure] (Chrysin-7-0-[β-D-glucuronid]-tetraacetat) (XLII):

Zu 0.15 g Chrysin-7-0-β-D-glucuronid (XLI) wurden 5 ccm Acetanhydrid und 0.15 g frisch geglühtes Zinkchlorid gegeben. Nach 24 stdg. Stehen rührten wir das Reaktionsgemisch in 50 ccm Eiswasser langsam ein und arbeiteten nach der üblichen Methode auf. Aus 70 ccm Äthanol erhielten wir einen farblosen, gallertigen Niederschlag vom Zersp. 210 - 212°C.

Ausb. 0.135 g (65% d.Th.).

IR (KBr): Flavoncarbonyl	1680 cm ⁻¹
Estercarbonyl + Säurecarbonyl	1740
Säurehydroxyl	2320 - 3500

C₂₉H₂₆O₁₄ (598.5)
 ber. C 58.20 H 4.38
 gef. C 58.13 H 4.36

NMR ((CD₃)₂SO, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4-CH ₃ CO	δ 2.05 ppm (s)
5-H	4.20 (d, J = 9 Hz)
2-,3-,4-H	4.98-5.72 (m)
1-H	5.98 (d, J = 7 Hz)
Aglykon: 5-CH ₃ CO	δ 2.25 ppm (s)
3-H	6.89 (s)
6-H	6.91 (d, J = 2 Hz)
8-H	7.40 (d, J = 2 Hz)
3'-,4'-,5'-H	7.48-7.81 (m)
2'-,6'-H	7.85-8.25 (m)

VI. Synthese von Apigenin-7,4'-di-O- β -D-glucuronid⁴⁷⁾:

1. 7,4'-Dihydroxy-5-acetoxy-flavon-7,4'-di-O-[2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester] (Apigenin-7,4'-di-O-[β -D-glucuronid-methylester]-heptaacetat)(XLV):

0.55 g Apigenin (XLIV) und 2 g 2,3,4-Tri-O-acetyl-1-desoxy-1- α -D-bromglucopyranosiduronsäure-methylester⁴⁾ wurden mit 0.8 g Silbercarbonat und 1.2 g wasserfreiem Calciumsulfat in 30 ccm Chinolin unter Lichtabschluß 12 Stdn. geschüttelt³⁾. Anschließend gaben wir 1 g α -Acetobromglucuronsäure-methylester, 0.4 g Silbercarbonat und 0.6 g Calciumsulfat in 10 ccm Chinolin zu und schüttelten 5 Stdn.. Die Reaktion konnte chromatographisch (DC-Kieselgel, Benzol/Pyridin/Ameisensäure 72:18:10) verfolgt werden. Nun rührten wir das Reaktionsgemisch langsam in 700 ccm 10proz. Kaliumchloridlösung ein, säuerten mit 25 ccm Eisessig an und ließen über Nacht stehen. Nach dem Abfiltrieren wuschen wir mehrmals mit Wasser nach. Den Rückstand nahmen wir mit Aceton auf, zentrifugierten, dampften die Lösung am Rotationsverdampfer ein und chromatographierten an einer Kieselgelsäule (60 x 6 cm) mit dem Laufmittel Benzol/Äthanol (9:1).

Die Fraktionen 42-50 (je 25 ccm) wurden zur Trockne gebracht und mit Acetanhydrid/Natriumacetat acetyliert.

Wir erhielten aus Äthanol/Chloroform farblose, lange Nadeln vom Schmp. 235 - 237⁰C. Nach dem NMR-Spektrum handelte es sich um Apigenin-7-O-(β -D-glucopyranosid-uronsäure-methylester)-pentaacetat (XXXV).

Die Fraktionen 26-35, die das Hauptprodukt enthielten, wurden im Rotationsverdampfer eingedampft und der Rückstand nach der üblichen Methode mit Acetanhydrid/Natriumacetat acetyliert. Aus Äthanol/Chloroform lange, dünne, farblose Nadeln vom Schmp. 255 - 258⁰C.

Ausb. 0.3 g (16% d.Th.).

DC-Kieselgel, Benzol/Äthanol (9:1): $R_f = 0.4$

$C_{43}H_{44}O_{24}$ (944.8)

ber. C 54.66 H 4.69

gef. C 54.50 H 4.66

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4- und

2'-,3'-,4'- CH_3CO δ 2.09 ppm (s)

- OCH_3 und - OCH_3 , 3.76 (s)

5-H und 5'-H 4.17-4.54 (m)

1-,2-,3-,4-H und

1'-,2'-,3'-,4'-H 5.20-5.58 (m)

Aglykon: 5- CH_3CO δ 2.47 ppm (s)

3-H 6.53 (s)

6-H 6.70 (d, J = 2 Hz)

8-H 7.0 (d, J = 2 Hz)

3'-,5'-H 7.12 (d, J = 8.5 Hz)

2'-,6'-H 7.80 (d, J = 8.5 Hz)

2. 5,7,4'-Trihydroxy-flavon-7,4'-di-O-[2,3,4-tri-O-acetyl-
β-D-glucopyranosiduronsäure] (Apigenin-7,4'-di-O-β-D-
glucuronid) (XLVI):

0.44 g von Apigenin-7,4'-di-O-[β-D-glucuronid-methyl-
ester]-heptaacetat (XLV) wurden in einer Mischung von
100 ccm Aceton und 50 ccm Wasser langsam unter Rühren
im Eisbad mit 20 ccm 1n-Natronlauge versetzt. Nach 5
Min. setzten wir nochmals 50 ccm Wasser zu. Der Ab-
lauf der Reaktion wurde chromatographisch (DC-Kiesel-
gel, Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser 10:2:3) verfolgt.
Nach 30 Min. gaben wir 50 ccm Wasser zu und dampften
das Aceton bei Zimmertemperatur am Rotationsverdampfer
im Vakuum ab. Nach einer weiteren Zugabe von 100 ccm
Wasser fügten wir 20 ccm Ionenaustauscher I (stark
saurer Kationenaustauscher, Merck 4765) unter Rühren
zu. Nach einer halben Std. filtrierten wir ab, wuschen
gut mit Wasser nach und engten das Filtrat am Rotations-
verdampfer im Vakuum ein. Aus Wasser gallertiger, blaß-
gelber Niederschlag vom Zersp. 185°C.

Ausb. 0.2 g (64% d.Th.).

$[\alpha]_D^{28}$: -142.3° (c = 0.39 in Pyridin/Wasser 1:1)

DC-Kieselgel, Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser (10:2:3):

$R_f = 0.42$

UV (Methanol p.a.):

$\lambda_{\max}$ (lg ε) 268 nm (4.35)

320 (4.30)

IR (KBr): Flavoncarbonyl 1640 cm^{-1}

Säurecarbonyl 1710

Wir trockneten die Substanz im Exsikkator mit Phosphor-
pentoxid über Calciumchlorid. Der Wassergehalt nach KARL
FISCHER betrug: ber. 10.40%

gef. 10.32%

Daraus ergaben sich 4 Kristallwasser.

$\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{O}_{17} \times 4\text{ H}_2\text{O}$ (694.5)

ber. C 46.69 H 4.93

gef. C 46.30 H 4.32

NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4-H und

2'-,3'-,4'-H δ 3.2-3.8 ppm (m)

5-H und 5'-H 3.85-4.35 (br)

1-H und 1'-H 5.30 (br)

Aglykon: 6-H δ 6.52 ppm (d, J = 2 Hz)

8-H 6.91 (d, J = 2 Hz)

3-H 6.94 (s)

3'-,5'-H 7.26 (d, J = 9 Hz)

2'-,6'-H 8.1 (d, J = 9 Hz)

5-OH 13.0 (s)

3. 7,4'-Dihydroxy-5-acetoxy-flavon-7,4'-di-O-[2,4-di-O-
acetyl-B-D-glucopyranosiduronsäure-3,6-lacton] (Api-
genin-7,4'-di-O-[B-D-glucuronid- γ -lacton]-pentaacetat
(XLVII):

0.1 g von Apigenin-7,4'-di-O-B-D-glucuronid (XLVI) wur-
den mit 10 ccm Acetanhydrid und 0.15 g Natriumacetat

nach der üblichen Methode acetyliert. Nach der Aufarbeitung erhielten wir aus Äthanol/Chloroform farblose, lange Nadeln vom Schmp. 154 - 156°C.

Ausb. 0.055 g (48% d.Th.).

DC-Kieselgel, Benzol/Äthanol (9:1): $R_f = 0.35$

IR (KBr): Flavoncarbonyl 1640 cm^{-1}

Estercarbonyl 1740

Lactoncarbonyl 1800

$\text{C}_{37}\text{H}_{32}\text{O}_{20}$ (796.6)

ber. C 55.78 H 4.05

gef. C 55.60 H 4.40

NMR (CDCl_3 , int. TMS):

Zucker : 2-,4- und

2'-,4'- CH_2CO δ 2.20; 2.25 ppm (s)

5-H 4.38 (m)

2-,3-,4- und

2'-,3'-,4'-H 4.90-5.60 (m)

1-H und 1'-H 5.78 (s)

Aglykon: 5- CH_2CO δ 2.45 ppm (s)

3-H 6.59 (s)

6-H 6.79 (d, J = 2 Hz)

8-H 7.13 (d, J = 2 Hz)

3'-,5'-H 7.18 (d, J = 9 Hz)

2'-,6'-H 7.85 (d, J = 9 Hz)

VII. Synthese von Chrysoeriol-7-0- β -D-glucuronid⁴⁷⁾:

1. 7-Hydroxy-3'-methoxy-5,4'-diacetoxy-flavon-7-0-[2,3,4-tri-0-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester] (Chrysoeriol-7-0-[β -D-glucuronid-methylester]-pentaacetat (II):

Wir lösten 0.5 g Chrysoeriol (XLVIII) und 0.75 g α -Acetobromglucuronsäure-methylester⁴⁾ in 30 ccm Chinolin und schüttelten nach Zugabe von 0.6 g Silbercarbonat und 0.9 g Calciumsulfat unter Lichtabschluß³⁾. Die Reaktion konnte chromatographisch (DC-Kieselgel, Benzol/Pyridin/Ameisensäure 72:18:10) verfolgt werden. Nach 2 Stdn. gossen wir zwei dieser Ansätze langsam unter Rühren in 1 l 10proz. Kaliumchloridlösung und fügten 60 ccm Eisessig zu. Nach 12 stdg. Stehen nutschten wir das Reaktionsgemisch ab, wuschen mit Wasser gut nach und nahmen den Rückstand in Aceton auf. Wir filtrierten durch eine Glasfritte, dampften das Aceton am Rotationsverdampfer im Vakuum ab und trockneten über Nacht im Exsikkator. Das Gemisch der Kupplungsprodukte wog 1.7 g und wurde mit 25 ccm Acetanhydrid und 2 g Natriumacetat nach der üblichen Weise acetyliert. Nach der Aufarbeitung erhielten wir 1.4 g eines Gemisches von drei Vollacetaten. Nach einer Trennung auf 140 DC-Kieselgelplatten (20 x 20 cm/0.25 mm), indem wir das Chromatogramm mit dem Laufmittel Benzol/Äthylmethylketon (75:25) je zweimal entwickelten, gelang es uns durch Extraktion

des ausgekratzten Kieselgels mit Chloroform im Soxhlet die drei Acetate zu isolieren und durch NMR-Spektren zu identifizieren:

Die Zone mit dem $R_f = 0.31$ lieferte das Hauptprodukt das Chrysoeriol-7-0-(β -D-glucuronid-methylester)-pentaacetat (IL):

Schmp. 220 - 222°C

Ausb. 0.24 g (10.3% d.Th.).

DC-Kieselgel, Benzol/Äthylmethylketon (75:25): $R_f = 0.31$

$C_{33}H_{32}O_{17}$ (700.6)

ber. C 56.57 H 4.60

gef. C 56.20 H 4.52

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4- CH_3CO	δ 2.08 ppm (s)
- OCH_3	3.73 (s)
5-H	4.20-4.55 (m)
1-,2-,3-,4-H	5.20-5.60 (m)
Aglykon: 4'- CH_3CO	δ 2.34 ppm (s)
5- CH_3CO	2.45 (s)
3'- OCH_3	3.93 (s)
3-H	6.57 (s)
6-H	6.72 (d, J = 2.5 Hz)
8-H	7.04 (d, J = 2.5 Hz)
5'-H	7.18 (d, J = 8 Hz)
2'-,6'-H	7.47 (m)

Die Zone mit dem $R_f = 0.26$ lieferte als 1. Nebenprodukt die Verbindung

4'-Hydroxy-3'-methoxy-5,7-diacetoxy-flavon-4'-O-[2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester] (Chrysoeriol-4'-O-[β -D-glucuronid-methylester]-pentaacetat) (LII):

Schmp. 223 - 225°C

Ausb. 0.1 g (4.3% d.Th.).

DC-Kieselgel, Benzol/Äthylmethylester (75:25): $R_f = 0.26$

$C_{33}H_{32}O_{17}$ (700.6)

ber. C 56.57 H 4.60

gef. C 56.10 H 4.71

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4- CH_3CO	δ 2.05 ppm (s) und 2.10 (s)
- OCH_3	3.75 (s)
5-H	4.19 (m)
1-,2-,3-,4-H	5.06-5.60 (m)
Aglykon: 7- CH_3CO	δ 2.35 ppm (s)
5- CH_3CO	2.45 (s)
3'- OCH_3	3.93 (s)
3-H	6.60 (s)
6-H	6.88 (d, J = 2.5 Hz)
5'-H	7.24 (d, J = 8 Hz)
8-H	7.31 (d, J = 2.5 Hz)
2'-,6'-H	7.41 (m)

Die Zone mit dem $R_f = 0.13$ lieferte als 2.Nebenprodukt das

7,4'-Dihydroxy-3'-methoxy-5-acetoxy-flavon-7,4'-di-O-[2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-methylester](Chrysoeriol-7,4'-di-O-[β -D-glucuronid-methylester]-heptaacetat) (LIII):

Schmp. 244 - 246°C

Ausb. 0.1 g (3.0% d.Th.).

DC-Kieselgel, Benzol/Äthylmethyleketon (75:25): $R_f = 0.13$

$C_{44}H_{46}O_{25}$ (974.8)

ber. C 54.21 H 4.76

gef. C 53.20 H 4.77

NMR ($CDCl_3$, int. TMS):

Zucker : 2-,3-,4- und

2'-,3'-,4'- CH_3CO δ 2.09 ppm (s)

- OCH_3 und - OCH_3' 3.74 (s) und 3.76 (s)

5-H und 5'-H 4.10-4.50 (m)

1-,2-,3-,4-H und

1'-,2'-,3'-,4'-H 5.10-5.62 (m)

Aglykon: 5- CH_3CO δ 2.45 ppm (s)

3'- OCH_3 3.94 (s)

3-H 6.56 (s)

6-H 6.71 (d, J = 2.5 Hz)

8-H 7.04 (d, J = 2.5 Hz)

2'-,5'-,6'-H 7.15-7.60 (m)

2. 5,7,4'-Trihydroxy-3'-methoxy-flavon-7-0-(β -D-glucopyranosiduronsäure)] (Chrysoeriol-7-0- β -D-glucuronid)(L):

0.1 g von Chrysoeriol-7-0-(β -D-glucuronid-methylester)-pentaacetat (IL) wurden in einer Mischung von 75 ccm Aceton und 25 ccm Wasser unter Rühren im Eisbad langsam mit 5 ccm n-Natronlauge versetzt. Der Ablauf der Reaktion wurde chromatographisch (DC-Kieselgel, Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser 10:2:3) verfolgt. Nach 1/2 Std. gaben wir nochmals 20 ccm Wasser zu. Nach einer weiteren Std. neutralisierten wir die Lösung mit 3,5 ccm n-Salzsäure, dampften das Aceton am Rotationsverdampfer im Vakuum ab, säuerten die wäßrige Lösung durch Zugabe von 3 ccm n-Salzsäure bis pH 3 an und schüttelten zehnmal mit je 25 ccm Äthylacetat aus. Die Äthylacetatphasen wurden gesammelt, mit Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und am Rotationsverdampfer im Vakuum zum Trocknen gebracht. Nach dem Umkristallisieren aus Äthanol/Cyclohexan erhielten wir eine blaßgelbe Substanz vom Zersp. 189 - 190°C.

Ausb. 0.05 g (70% d.Th.).

$[\alpha]_D^{27}$: -105° (c = 0.679 in Pyridin/Wasser 1:1)

DC-Kieselgel, Äthylacetat/Ameisensäure/Wasser (10:2:3):

R_f = 0.69

UV (Methanol p.a.):

$\lambda_{\max}$ (lg ϵ)	250 nm	(4,25)
	268	(4,20)
	344	(4,31)

IR (KBr): Flavoncarbonyl	1655 cm^{-1}
Säurecarbonyl	1730
Säurehydroxyl + OH-Gruppen	2300 - 3500

Wir trockneten die Substanz im Hochvakuum bei 100°C .
Der Wassergehalt nach KARL FISCHER in Pyridin/Wasser
(1:1) betrug: ber. 3.64%

gef. 3.65%

Daraus ergab sich 1 Kristallwasser.

$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{12} \times \text{H}_2\text{O}$ (494.4)

ber. C 53.44 H 4.49

gef. C 53.15 H 4.59

NMR ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, int. TMS):

Zucker : 2-, 3-, 4-H	δ 3.20-3.80 ppm (m)
5-H	3.95-4.25 (br)
1-H	5.20 (br)
2-, 3-, 4-OH	5.0-5.8
Aglykon: 3'-OCH ₃	δ 3.92 ppm (s)
6-H	6.52 (d, J = 2 Hz)
8-H	6.90 (d, J = 2 Hz)
3-H	6.98 (s)
5'-H	6.97 (d, J = 8 Hz)
2'-, 6'-H	7.59 (m)
5-OH	13.0 (s)
4'-OH	10.0 (br)

Massenspektrum:

Chrysoeriol-7-O- β -D-glucuronid wurde nach der Methode von

HAKOMORI⁶⁰⁾ permethyliert und anschließend die Messung durchgeführt.

Meßbedingungen:

Direkteinlaß

Ionenquellentemperatur: 200°C

Verdampfungstemperatur: 180°C

Auflösung: 1000

Beschleunigungsspannung: 4 KV

Elektronenenergie: 70 eV

Emission: 300 μ A

Ionenquellendruck: 8×10^{-7} Torr

Schreibergeschwindigkeit: 30 sec/Dekade

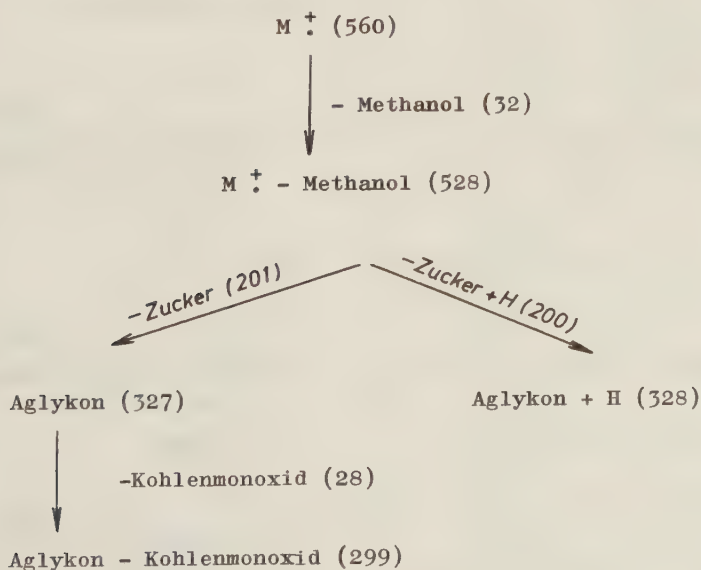


Tabelle 5

Fragment- Ionen m/e	Summenformel der Fragmente	relative In- tensität in %	Strukturformel der Fragmente
M^+	560	45	
$M-32(MeOH)$	528	40	
$Aglucon + H$	328	100	
$Aglucon$	327	~100	
$Aglucon-28$ (CO)	299	45	
Zucker	201	90	

3. 7-Hydroxy-3'-methoxy-5,4'-diacetoxy-flavon-7-0-[2,4-di-
0-acetyl- β -D-glucopyranosiduronsäure-3,6-lacton] (Chry-
soeriol-7-0-[β -D-glucuronid- γ -lacton]-tetraacetat (LI):

0.04 g von Chrysoeriol-7-0- β -D-glucuronid (L) wurden mit
5 ccm Acetanhydrid und 0.05 g Natriumacetat nach der üb-
lichen Methode acetyliert. Nach der Aufarbeitung wurde
aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 185 - 187°C.

Ausb. 0.035 g (70% d.Th.).

DC-Kieselgel, Benzol/Äthylmethylketon (75:25): $R_f = 0.39$

IR (KBr): Flavoncarbonyl 1640 cm^{-1}

Estercarbonyl 1740

Lactoncarbonyl 1800

NMR (CDCl_3 , int. TMS):

Zucker : 2-,4- CH_3CO	δ 2.09 ppm (s); 2.14 (s)
5-H	4.26 (d, J = 4 Hz)
4-H	4.98 (t, J = 4 Hz)
3-H	5.15 (t, J = 4 Hz)
2-H	5.31 (d, J = 4 Hz)
1-H	5.68 (s)
Aglykon: 4'- CH_3CO	δ 2.25 ppm (s)
5- CH_3CO	2.34 (s)
3'- OCH_3	3.85 (s)
3-H	6.55 (s)
6-H	6.68 (d, J = 2.5 Hz)
8-H	7.01 (d, J = 2.5 Hz)
3'-,5'-H	7.22 (d, J = 9 Hz)
2'-,6'-H	7.38 (m)

VIII. Syntheseprodukt eines Modellversuches mit β -Naphthol:

1. Naphthol-2-0-[2,5-di-0-acetyl- β -D-glucofuranosid-uronsäure-3,6-lacton](LV):

Farblose Nadeln vom Schmp. 228 - 229°C (Lit.⁵) 227-230°C)

$[\alpha]_D^{25}$: -9.0 (c = 0.92 in Pyridin) (Lit.⁵): $[\alpha]_D^{22}$: -4.8 in Pyridin).

NMR (CDCl_3 , int. TMS):

Zucker : 2-,5- CH_3CO	δ 1.45; 2.19 ppm (s)
3-,4-,5-H	5.00-5.5 (m)
2-H	5.56 (s)
1-H	6.01 (s)

2. Naphthol-2-0-[2,4-di-0-acetyl- β -D-glucopyranosid-uronsäure-3,6-lacton](LVI):

Das Naphthol-2-0- β -D-glucopyranuronid vom Schmp. 158 - 160°C (Lit.⁴): 151.5 - 152°C) wurde mit Acetanhydrid/Natriumacetat acetyliert. Farblose Nadeln vom Schmp. 187 - 188°C.

$[\alpha]_D^{27}$: - 111° (c = 1.39 in Chloroform)

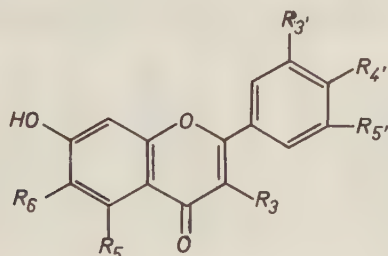
NMR (CDCl_3 , int. TMS):

Zucker : 2-,4- CH_3CO	δ 2.1; 2.18 ppm (s)
5-H	4.30 (d, J = 3 Hz)
4-H	4.91 (t, J = 3 Hz)
3-H	5.18 (t, J = 3.5 Hz)
2-H	5.43 (d, J = 3.5 Hz)
1-H	5.75 (s).

D. ZUSAMMENSTELLUNG DER BISHER
ISOLIERTEN FLAVONOID - GLUCU-
RONIDE DES PFLANZENREICHES :

(Literatur berücksichtigt bis Februar 1973)

Folgende Flavone wurden bisher als Glucuronide aus
Pflanzen isoliert:



T a b e l l e 6

	R_3	R_5	R_6	$R_{3'}$	$R_{4'}$	$R_{5'}$
Acacetin	H	OH	H	H	OCH ₃	H
Apigenin	H	OH	H	H	OH	H
Azaleatin	OH	OCH ₃	H	OH	OH	H
Baicalein	H	OH	OH	H	H	H
Chrysin	H	OH	H	H	H	H
Chrysoeriol	H	OH	H	OCH ₃	OH	H
Dinatin	H	OH	OH	OH	OCH ₃	H
Diesmetin	H	OH	H	OH	OCH ₃	H
Hispidulin	H	OH	OCH ₃	H	OH	H
Kämpferol	OH	OH	H	H	OH	H
Luteolin	H	OH	H	OH	OH	H
Oroxylin A	H	OH	OCH ₃	H	H	H
Patuletin	OH	OH	OCH ₃	OH	OH	H
Quercetin	OH	OH	H	OH	OH	H
Scutellarein	H	OH	OH	H	OH	H
Tricin	H	OH	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

T a b e l l e 7

Verbindung	Pflanzenart	Pflanzenfamilie	Autor	Literatur
a) Flavonoid-0-mono-glucuronide:				
Acacetin-7-glucuronid	Cirsium arvense	Asteraceae	V.L.SHELYUTO	Khim.Prir.Soeidin <u>2</u> , 240 (1972)
Apigenin-7-glucuronid	Erigeron annuus L.Pers.	Asteraceae	K.IMAI	J.pharm.Soc.Japan (Yakugakuzasshi)
	Antirrhinum majus L.	Scrophulariaceae	M.K.SEIKEL	<u>73</u> , 128 (1953) J.Amer.chem.Soc. <u>77</u> , 5685 (1955)
	Anthemis nigrescens Willd.	Asteraceae	J.B.HARBORNE	Phytochem. <u>9</u> , 2011 (1970)
	Dendranthema arcticum L.	Asteraceae		
	Leucanthemum-Arten	Asteraceae		
	Tanacetum niveum (Log.)	Asteraceae		
	Ruellia tuberosa L.	Acanthaceae	H.WAGNER	Chem.Ber. <u>104</u> , 2681 (1971)
Azaleatin-3-glucuronid	Beilschmiedia miersii	Lauraceae	J.B.HARBORNE	Phytochem. <u>8</u> , 763 (1969)
Baicalein-6-glucuronid	Oroxylum indicum	Bignoniaceae	S.S.SUBRAMANIAN	Phytochem. <u>11</u> , 439 (1972)
Baicalein-7-glucuronid (Baicalin)	Scutellaria baicalensis	Lamiaceae	K.SHIBATA	Acta phytochim., Tokyo, <u>1</u> , 105 (1973)
	Scutellaria columnae	Lamiaceae	C.CHARAUX	J.Pharm.Chim., Paris, <u>2</u> , 401 (1940 b)
	Oroxylum indicum	Bignoniaceae	S.S.SUBRAMANIAN	Phytochem. <u>11</u> , 439 (1972)
	Scutellaria cretica	Lamiaceae	T.P.POPOVA	Farm.Zh.(Kiev) <u>27</u> (1)84 (1972)

Verbindung	Pflanzenart	Pflanzenfamilie	Autor	Literatur
Chrysin-7-glucuronid	Scutellaria galericulata L.	Lamiaceae	C.A.MARSH	Biochem. J. <u>59</u> , 58 (1955)
Chrysoeriol-7-glucuronid	Antirrhinum majus	Scrophulariaceae	J.B.HARBORNE	Phytochem. <u>2</u> , 327 (1963)
	Triticum-Arten	Gramineae	J.B.HARBORNE	Phytochem. <u>3</u> , (3) 421 (1964)
	Medicago sativa	Fabaceae	J.B.HARBORNE	Comparative Biochemistry of Flavonoids, Academic Press, London, 48 (1967)
	Tanacetum-Arten	Asteraceae	J.B.HARBORNE	Phytochem. <u>9</u> , 2011 (1970)
	Stipa lemmonii	Poaceae	N.A.M.SALEH	Phytochem. <u>10</u> , 490 (1971)
	Grindelia squarrosa	Asteraceae	H.WAGNER	Phytochem. <u>11</u> , 2350 (1972)
Dinatin-7-glucuronid	Pedaliium murex	Pedaliaceae	S.S.SUBRAMANIAN	Phytochem. <u>11</u> , 464 (1972)
	Stereospermum chelonoides	Bignoniaceae	S.S.SUBRAMANIAN	Phytochem. <u>11</u> , 1499 (1972)
Diosmetin-7-glucuronid	Pedaliium murex	Pedaliaceae	S.S.SUBRAMANIAN	Phytochem. <u>11</u> , 464 (1972)
	Stereospermum chelonoides	Bignoniaceae	S.S.SUBRAMANIAN	Phytochem. <u>11</u> , 1499 (1972)
Hispidulin-7-glucuronid	Scutellaria cretica	Lamiaceae	T.P.POPOVA	Farm. Zh. (Kiev) <u>27</u> (1) 84 (1972)
Kämpferol-3-glucuronid	Phaseolus vulgaris L.	Fabaceae	J.B.HARBORNE	Phytochem. <u>4</u> , 107 (1965)
	Anemone alpina L.	Ranunculaceae	K.EGGER	Ber. dtsh. bot. Ges. <u>78</u> , 153 (1965)
	Euphorbia cyparissias L.	Euphorbiaceae	H.STADTMANN	Naturwissenschaften <u>53</u> , 362 (1966)
	Euphorbia lathyris L.	Euphorbiaceae	K.DUMKOW	Univ. Freiburg, Dissertation (1967) Z. Naturforsch. <u>24 b</u> , 358 (1969)

Verbindung	Pflanzenart	Pflanzenfamilie	Autor	Literatur
Kämpferol-7-glucuronid	Nelumbium speciosum Willd.	Nymphaeaceae	S.S.SUBRAMANIAN	Phytochem. <u>8</u> , 674 (1969)
	Euphorbia esula L.	Euphorbiaceae	H.WAGNER	Chem.Ber. <u>103</u> , 3678 (1970)
	Rubus idaeus	Rosaceae	J.J.RYAN	Phytochem. <u>10</u> , 1675 (1971)
	Foeniculum vulgare	Apiaceae	J.B.HARBORNE	Phytochem. <u>10</u> , 399 (1971)
Luteolin-7-glucuronid	Tulipa	Liliaceae	J.B.HARBORNE	Phytochem. <u>4</u> , 107 (1965)
	Trifolium pannonicum L.	Fabaceae	G.SCHULTZ	Phytochem. <u>10</u> , 3315 (1971)
	Antirrhinum majus	Scrophulariaceae	J.B.HARBORNE	Phytochem. <u>2</u> , 327 (1963)
	Digitalis purpurea	Scrophulariaceae		
	Tanacetum-Arten	Asteraceae	J.B.HARBORNE	Phytochem. <u>2</u> , 2011 (1970)
	Anthemis nigrescens	Asteraceae		
	Chrysanthemum coronarium	Asteraceae		
	Cirsium palustre	Asteraceae	V.L.SHELYUTO	Khim.Prir.Soedin <u>2</u> , 241 (1972)
Oroxylin A-7-glucuronid	Scutellaria cretica	Lamiaceae	T.P.POPOVA	Farm.Zh.(Kiev) <u>27</u> (1) 84 (1972)
Patuletin-3-glucuronid	Lasthenia fremontii	Asteraceae	N.A.M.SALEH	Phytochem. <u>10</u> , 611 (1971)
	Lasthenia conjungens	Asteraceae		
Quercetin-3-glucuronid	Phaseolus vulgaris L.	Fabaceae	G.ENDRES	Liebigs Ann.Chem. <u>537</u> , 205 (1939)
	Phaseolus vulgaris L.	Fabaceae	C.A.MARSH	Nature (London) <u>176</u> , 176 (1955)
	Gaultheria miqueliana T.	Ericaceae	T.SASAKI	J.pharm.Soc.Japan(Yakugakuzasshi) <u>76</u> , 892 (1956)

Verbindung	Pflanzenart	Pflanzenfamilie	Autor	Literatur
	<i>Populus grandidentata</i> L.	Salicaceae	J. A. PEARL	J. org. Chem. <u>28</u> , 1442 (1963) Tappi <u>48</u> , 607 (1965)
	<i>Vitis vinifera</i> L.	Vitaceae	P. RIBEREAU-GAYON	C. R. hebd. Séances Acad. Sci. <u>258</u> , 1335 (1964) Ann. Physiol. Vegetale <u>6</u> , 211 (1964)
	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	Fabaceae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>4</u> , 107 (1965)
	<i>Euphorbia cyparissias</i> L.	Euphorbiaceae	H. STADTMANN	Naturwissenschaften <u>53</u> , 362 (1966)
	<i>Beilschmiedia miersii</i> L.	Lauraceae	J. B. HARBORNE	Univ. Freiburg, Dissertation (1967) Phytochem. <u>8</u> , 763 (1969)
	<i>Euphorbia lathyris</i> L.	Euphorbiaceae	K. DUMKOW	Z. Naturforsch. <u>24</u> b, 358 (1969)
	<i>Nelumbium speciosum</i> Willd.	Nymphaeaceae	S. S. SUBRAMANIAN	Phytochem. <u>8</u> , 674 (1969)
	<i>Rubus idaeus</i>	Rosaceae	J. J. RYAN	Phytochem. <u>10</u> , 1675 (1971)
	<i>Lasthenia conjungens</i>	Asteraceae	N. A. M. SALEH	Phytochem. <u>10</u> , 611 (1971)
	<i>Lasthenia fremontii</i>	Asteraceae		
	<i>Foeniculum vulgare</i>	Apiaceae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>10</u> , 399 (1971)
	<i>Tulipa</i>	Liliaceae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>4</u> , 107 (1965)
	<i>Verbesina myriocephala</i>	Asteraceae	H. WAGNER	Phytochem. im Druck

Quercetin-7-glucuronid
Rhamnocitrin-3-glucuronid

Verbindung	Pflanzenart	Pflanzenfamilie	Autor	Literatur
Scutellarein-7-glucuronid (Scutellarin)	Scutellaria altissima	Lamiaceae	H. MÖBISCH	Mh. Chem. <u>22</u> , 679 (1901)
	Scutellaria baicalensis	Lamiaceae	K. SHIBATA	Acta phytochim., Tokyo, <u>1</u> , 105 (1923)
	Scutellaria indica	Lamiaceae		
	Scutellaria centifolia	Lamiaceae	T. MIWA	Acta phytochim., Tokyo, <u>6</u> , 154 (1932)
	Centaurea scabiosa	Asteraceae	C. CHARAUX	J. Pharm. Chim., Paris, <u>2</u> , 155 (1940 a)
	Scutellaria tournefortii	Lamiaceae	C. A. MARSH	Biochem. J. <u>52</u> , 58 (1955)
	Scutellaria columnae	Lamiaceae		
	Centaurea depressa	Asteraceae	V. A. BANDYNKOVA	Khim. Prir. Soedin <u>3</u> , 57 (1967)
	Scutellaria polyodon	Lamiaceae	V. A. BANDYNKOVA	Khim. Prir. Soedin <u>5</u> , 596 (1969)
	Millingtonia hortensis	Bignoniaceae	S. S. SUBRAMANIAN	Curr. Sci. <u>40</u> , 194 (1971)
Tricin-7-glucuronid	Oroxylum indicum	Bignoniaceae	S. S. SUBRAMANIAN	Phytochem. <u>11</u> , 439 (1972)
	Jacaranda mimosaeifolia D.	Bignoniaceae	S. S. SUBRAMANIAN	Phytochem. <u>11</u> , 1499 (1972)
	Scutellaria cretica	Lamiaceae	T. P. POPOVA	Farm. Zh. (Kiev), <u>27</u> (1) 84 (1972)
	Triticum-Arten	Gramineae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>3</u> , 421 (1964)
	Medicago sativa	Fabaceae	J. B. HARBORNE	Comparative Biochemistry of Flavonoids, Academic Press, London, <u>48</u> (1967)
	Stipa lemmonii	Poaceae	N. A. M. SALEH	Phytochem. <u>10</u> , 490 (1971)

Verbindung	Pflanzenart	Pflanzenfamilie	Autor	Literatur
Flavonoid-0- <u>di-glucuronide</u> :				
Acacetin-7-glucurono-(1→2)-glucuronid	Clerodendrum trichotomum	Verbenaceae	I. OKIGAWA	Chem. Pharm. Bull. <u>19</u> (1) 148 (1971)
Apigenin-7,4'-diglucuronid	Antirrhinum majus	Scrophulariaceae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>2</u> , 327 (1963)
Quercetin-3,7-diglucuronid	Potentilla reptans	Rosaceae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>4</u> , 107 (1965)
Tricin-7-diglucuronid	Medicago sativa	Fabaceae	J. B. HARBORNE	Comparative Biochemistry of Flavonoids, Academic Press, London, 48 (1967)
Flavonoid- <u>glykosyl-glucuronide</u> :				
Apigenin-7-xylosyl-glucuronid	Tanacetum nivium	Asteraceae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>2</u> , 2011 (1970)
Chrysoeriol-7-p-cumaroylglucosyl-glucuronid	Tanacetum corymbosum L.	Asteraceae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>2</u> , 2011 (1970)
Kämpferol-3-rutinosid-7-glucuronid	Tulipa	Liliaceae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>4</u> , 107 (1965)
Luteolin-7-glucosyl-glucuronid	Digitalis purpurea	Scrophulariaceae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>2</u> , 327 (1963)
Quercetin-3-glucosyl-glucuronid	Lasthenia conjungens	Asteraceae	N. A. M. SALEH	Phytochem. <u>10</u> , 611 (1971)

Verbindung	Pflanzenart	Pflanzenfamilie	Autor	Literatur
Quercetin-3-rutinosid-7-glucuronid	Lasthenia fremontii Nelumbium speciosum Tulipa	Asteraceae Nymphaeaceae Liliaceae	T. NAKOOKI J. B. HARBORNE	J. pharm. Soc. Japan, <u>81</u> , 1158 (1961) Phytochem. <u>4</u> , 107 (1965)
d) <u>Flavonoid-acyl-glucuronid:</u> Apigenin-7-acyl-glucuronid	Dendranthema arcticum L.	Asteraceae	J. B. HARBORNE	Phytochem. <u>2</u> , 2011 (1970)

E. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- 1) H.MÖBISCH und G.GOLDSCHMIEDT, Mh.Chem. 22, 679 (1901)
- 2) G.J.DUTTON, Glucuronic Acid, Academic Press (New York and London) 9 (1966)
- 3) E.KOENIGS und L.KNORR, Ber.dtsch.chem.Ges. 34, 974 (1901)
- 4) G.N.BOLLENBACK, J.W.LONG, D.G.BENJAMIN und J.A.LINDQUIST, J.Amer.chem.Soc. 77, 3310 (1955)
- 5) K.C.TSOU und A.M.SELIGMAN, J.Amer.chem.Soc. 74, 5605 (1952)
- 6) E.GLASER und W.WULWEK, Biochem.Z. 145, 514 (1924)
- 7) B.HELFERICH und E.SCHMITZ-HILLEBRECHT, Ber.dtsch.chem. Ges. 66, 378 (1933)
- 8) B.HELFERICH und A.BERGER, Chem.Ber. 90, 2492 (1957)
- 9) W.W.ZORBACH und G.D.VALIAVEEDAN, J.org.Chemistry 29, 2462 (1964)
- 10) H.YOSHIMURA, K.OGURI und H.TSUKAMOTO, Chem.Pharm.Bull. 16 (11) 2114 (1968)
- 11) R.B.CONROW und S.BERNSTEIN, J.org.Chemistry 36, 863 (1971)
- 12) H.WAGNER, H.DANNINGER, O.SELIGMANN und L.FARKAS, Chem.Ber. 103, 3674-3677 (1970)
- 13) G.ENDRES, R.HÜTTEL und L.KAUFMANN, Liebigs Ann.Chem. 537, 205 (1939)
- 14) C.A.MARSH, Nature [London] 176, 176 (1955)
- 15) T.SASAKI und Y.WATANABE, J.pharm. Soc.Japan [Yakugaku-zasshi] 76, 892 (1956)
- 16) I.A.PEARL und S.F.DARLING, J.org.Chemistry 28, 1442 (1963); ibid.Tappi 48, 607 (1965)

- 17) P.RIBEREAU-GAYON, C.R.hebd.Séances Acad.Sci. 258, 1335 (1964); *ibid.*Ann.Physiol.Vegetable 6, 211 (1964)
- 18) J.B.HARBORNE, *Phytochem.* 4, 107 (1965)
- 19) H.STADTMANN und R.POHL, *Naturwissenschaften* 53, 362 (1966)
- 20) H.STADTMANN, Univ. Freiburg Dissertation (1967)
- 21) J.B.HARBORNE und J.MENDEZ, *Phytochem.* 8, 763 (1969)
- 22) K.DUMKOW, *Z.Naturforsch.* 24 b, 358 (1969)
- 23) S.S.SUBRAMANIAN, *Phytochem.* 8, 674 (1969)
- 24) J.J.RYAN und D.E.COFFIN, *Phytochem.* 10, 1675-7 (1971)
- 25) N.A.M.SALEH, B.A.BOHM und R.ORNDUFF, *Phytochem.* 10, 611 (1971)
- 26) J.B.HARBORNE, *Phytochem.* 10, 399 (1971)
- 27) W.F.GOEDEL und F.H.BABERS, *J.biol.Chem.* 111, 347 (1935)
- 28) C.A.MARSH, unpublished observations (1952)
- 29) St.v.KOSTANECKI, V.LAMPE und J.TAMBOR, *Ber.dtsch.chem. Ges.* 37, 1402 (1904)
- 30) L.JURD, *J.org.Chemistry* 27, 1294 (1962)
- 31) H.G.ARNOLD, Univ. München, Dissertation (1965)
- 32) H.WAGNER, H.DANNINGER, O.SELIGMANN, M.NOGRADI, L.FARKAS und N.FARNSWORTH, *Chem.Ber.* 103, 3678-3683 (1970)
- 33) K.EGGER und M.KEIL, *Ber.dtsch.bot.Ges.* 78, 153 (1965)
- 34) D.L.DREYER et al., *Tetrahedron [London]* 20, 2977 (1964)
- 35) T.HEAP und R.ROBINSON, *J.chem.Soc. [London]* 2336 (1926)
- 36) H.PACHECO und A.GROUILLER, *Bull.Soc.Chim.France* (3), 779-785 (1965)
- 37) H.KUHN und I.LÖW, *Ber.dtsch.chem.Ges.* 77, 196 (1944)
- 38) J.ALLAN und R.ROBINSON, *J.chem.Soc. [London]* 125, 2192 (1925)

- 39) H.WAGNER, H.DANNINGER, M.A.IYENGAR, O.SELIGMANN, L.FARKAS, S.S.SUBRAMANIAN und A.G.R.NAIR, Chem.Ber. 104, 2681-2687 (1971)
- 40) K.IMAI und T.MAYAMA, J.pharm.Soc.Japan [Yakugakuzasshi] 73, 128 (1953)
- 41) M.K.SEIKEL, J.Amer.chem.Soc. 77, 5685 (1955)
- 42) J.B.HARBORNE, V.H.HEYWOOD und N.A.M.SALEH, Phytochem. 9, 2011 (1970)
- 43) A.J.VOGEL, Practical Organic Chemistry, London, 736 (1959)
- 44) R.TEOULE, J.CHOPIN und C.MENTZER, Bull.Soc.Chim.France, 2116 (1960)
- 45) H.WAGNER, G.AURNHAMMER, H.DANNINGER, O.SELIGMANN, L.PALLOS und L.FARKAS, Chem.Ber. 105, 257-261 (1972)
- 46) C.A.MARSH, Biochem.J. 59, 58 (1955)
- 47) H.WAGNER, H.DANNINGER, O.SELIGMANN und L.FARKAS, Chem. Ber. im Druck
- 48) J.B.HARBORNE, Phytochem. 2, 327-334 (1963)
- 49) J.B.HARBORNE und E.HALL, Phytochem. 3, (3) 421-8 (1964)
- 50) J.B.HARBORNE, Comparative Biochemistry of Flavonoids, Academic Press, London 48 (1967)
- 51) N.A.M.SALEH, B.A.BOHM und I.R.MAZE, Phytochem. 10, 490 (1971)
- 52) H.WAGNER, M.A.IYENGAR, O.SELIGMANN, L.HÖRHAMMER und W. HERZ, Phytochem. 11, 2350 (1972)
- 53) G.J.DUTTON, Glucuronic Acid, Academic Press (New York and London) 19 (1966)
- 54) F.SMITH, J.chem.Soc. [London] 584 (1944)

- 55) C.A.MARSH, J.Chem.Soc. 1578 (1952)
- 56) K.C.TSOU und A.M.SELIGMAN, J.Amer.chem.Soc. 75, 1042
(1953)
- 57) J.E.WATKIN, Aspects of Plant Phenolic Chemistry, Toronto
46, (1963)
- 58) G.J.DUTTON, Glucuronic Acid, Academic Press (New York
and London) 53 (1966)
- 59) W.F.GOEDEL und F.H.BABERS, J.biol.Chem. 100, 743 (1933)
- 60) S.HAKOMORI, J.Biochem. 55, 205 (1964)
- 61) H.BUDZIKIEWICZ, C.DJERASSI und D.WILLIAMS, Structure elu-
cidation of natural products by mass spectrometry, Holden-
day, San Francisco, London, Amsterdam 224 (1964)
- 62) H.WAGNER und O.SELIGMANN, Tetrahedron im Druck

L e b e n s l a u f

Am 18. November 1939 wurde ich, Heinz Danninger, als Sohn des kaufmännischen Angestellten Franz Danninger und seiner Ehefrau Frieda, geb. Rottmann, in München geboren.

Dort besuchte ich auch die Volksschule und die Oberrealschule und bestand 1959 das Abitur.

Die zweijährige Praktikantenzeit in der Paul-Heyse-Apotheke, München, beendete ich mit der pharmazeutischen Vorprüfung.

Im Wintersemester 1961/62 nahm ich in München das Studium der Pharmazie auf, das ich im Herbst 1964 mit dem Staatsexamen abschloß.

Anschließend war ich in der Oberen-Apotheke, Dachau, und in der Hasen-Apotheke, München, als Kandidat tätig.

Nach der Bestallung als Apotheker im Dezember 1965 übernahm ich am 1. Januar 1966 die Leitung der St. Martins-Apotheke, München.

Im April 1967 begann ich am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München unter Leitung von Herrn Professor Dr. H. Wagner mit vorliegender Dissertation.

